Série A N° 4489
N° d'Ordre 5336

THÈSES

PRESENTEES

A LA FACULTE DES SCIENCES DE L'UNIVERSITE DE PARIS

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR ES SCIENCES NATURELLES

par

LE MINOR Léon

1re THESE - RECHERCHES SUR LA CONVERSION BACTERIOPHAGIQUE DE CARACTERES ANTIGENIQUES DES SALMONELLA

2e THESE - PROPOSITIONS DONNEES PAR LA FACULTE

Soutenues le 22 JUIN 1965 1965 devant la Commission d'examen.

MM. LWOFF André, Président
MONOD Jacques, SCHAEFFER Pierre } Examinateurs.

Série A N° 4489
N° d'Ordre 5336

THÈSES

PRESENTEES

A LA FACULTE DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITE DE PARIS

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR ES SCIENCES NATURELLES

par

LE MINOR Léon

1re THESE - RECHERCHES SUR LA CONVERSION BACTERIOPHAGIQUE DE CARACTERES ANTIGENIQUES DES SALMONELLA

2e THESE - PROPOSITIONS DONNEES PAR LA FACULTE

Soutenues le 1965 devant la Commission d'examen.

MM. LWOFF André Président
MONOD Jacques
SCHAEFFER Pierre } Examinateurs.

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

FACULTE DES SCIENCES DE L'UNIVERSITE DE PARIS

Doyen... M. ZAMANSKY

PROFESSEURS

BRELOT.....	T	Analyse supérieure
PRENANT.....	T	Anatomie et histologie comparée
GRASSE.....	T	Evolution des êtres organisés
PREVOST.....	T	Chimie organique
WYART.....	T	Minéralographie
TEISSIER.....	T	Zoologie
MANGENOT.....	T	Biologie végé (Orsay)
AUGER.....	T	Physique quantique et relativité
MONNIER.....	T	Physiologie générale
PIVETEAU.....	T	Paléontologie
ROCARD.....	T	Physique ENS
CARTAN.....	T	Mathématiques ENS
LAFITTE.....	T	Chimie générale
N.....	T	Géométrie supérieure
COULOMB.....	T	Physique du globe
Mle COUSIN.....	T	Biologie animale SPCN
CHRETIEN.....	T	Chimie minérale
BOCQUET.....	T	Zoologie
KASTLER.....	T	Physique ENS
EPHRUSSI.....	T	Génétique
RIVIERE.....	T	Géologie SPCN & sédiment (Orsay)
GAUTHERET....	T	Biologie végétale PCB
LUCAS R.....	T	Recherches physiques
THOMAS A.....	T	Biologie cellulaire
ARNULF.....	T	Optique appliquée
MORAND.....	T	Physique enseignement
SOLEILLET.....	T	Physique PCB
FORTIER.....	T	Mécanique exp. des fluides
DRACH.....	T	Zoologie
QUENEY.....	T	Météo & dynamique atmos
GALLIEN.....	T	Embryologie
EICHORN.....	T	Botanique
DE CUGNAC	T	Biologie végétale SPCN
Mle CAUCHOIS..	T	Chimie physique
THELLIER.....	T	Physique du globe
L'HERITIER	T	Biologie générale Orsay
GRIVET.....	T	Radioélectricité Orsay
PONCIN.....	T	Mécanique générale
DU BREUIL.....	T	Arith & Théorie des nombres
QUELET.....	T	Chimie organique
CAGNIARD.....	T	Géophysique appliquée
CHAMPETIER..	T	Chimie macromoléculaire
CUVILLIER....	T	Micropaléontologie
JUNG.....	T	Géologie
TRILLAT.....	T	Microscopie et diffrac-élec
WIEMANN.....	T	Chimie organ. & structurale
JACQUINOT....	T	Spectrocospie et physique céleste (Orsay)
VASSY.....	T	Physique de l'atmosphère
DESTOUCHES..	T	Théorie physique
AMIEL.....	T	Chimie générale
HOCART.....	T	Minérall & cristal
J. P. MATHIEU.	T	Physique optique
COUTEAUX....	T	Cytologie
MAY.....	T	Zoologie
CHOQUET.....	T	Théorie des fonctions et topologie
FELDMANN....	T	Biologie végétale marine
GUINIER.....	T	Physique des solides (Orsay)
JOST.....	T	Physiologie comparée
FORTET.....	T	Calcul des probabilité et physique mathématiques
SCHWARTZ....	T	Calcul dif & Intégral
CHOUARD.....	T	Physiologie végétale
MALAVARD....	T	Aviation (technique aéron.)
NORMANT.....	T	Synthèse organique
BENARD.....	T	Chimie minérale
BUVAT.....	T	Botanique ENS
DUGUE.....	T	Statistique mathématiques
SOULAIRAC....	T	Psychophysiologie
ULRICH.....	T	Physiologie végé. Appli.
MARECHAL....	T	Optique théo. & appliquée
KIRRMANN....	T	Théories chimiques
CHADEFAUD..	T	Botanique
Mle LE BRETON	T	Physio de la nutrition
LELONG.....	T	Appli de l'ana. à la géométrie
DEVILLERS....	T	Anatomie & histo comparées
EHRESMANN...	T	Topologie algébrique
FRANCON.....	T	Physique SPCN
GLANGEAUD...	T	Géogra. phys. & géol.
DODEMENT....	T	Mathématiques MGP
PISOT.....	T	Technique math de la physique
ROCH.....	T	Géologie
SCHATZMANN.	T	Astrophysique
TERMIER.....	T	Géologie générale
ZAMANSKY....	T	Mathématiques générale
LENNUIER....	T	Physique MGP
RIZET.....	T	Génétique Orsay
ROUTHIER.....	T	Géologie appliquée
Mme TONNELAT	T	Physique théorique
DIXMIER.....	T	Mathématiques MPC
SOUCHAY.....	T	Chimie générale
AIGRAIN.....	T	Electro.techn.géné.
BRUSSET.....	T	Chimie systématique
M. LEVY.....	T	Physique théorique des hautes énergies (Orsay)
Mme CHAIX....	T	Chimie biologique
Mme HUREL PY	T	Biologie végétale PCB
PANNETIER...	T	Chimie générale
BRUN.....	T	Mécanique des fluides I
LEDERER.....	T	Chimie biologique (Orsay)
Mme DUBREIL.	T	Mathématiques (agréga)
Mme LELONG..	T	Math II ENS
BELLAIR.....	T	Géologie SPCN
COTTE.....	T	Physique électricité
DUBOIS J. E....	T	Chimie organique
LAMOTTE.....	T	Zoologie ENS
MICHEL A.	T	Chimie minérale Orsay
OLMER	T	Energétique générale
ROUAULT.....	T	Electricité (Orsay)
GAUTHIER.....	T	Mecanique appliquée
BARCHEWITZ..	T	Chimie physique
BROSSEL.....	T	Physique atomique
BUSER.....	T	Physiologie comparée
CAMUS.....	T	Physio. végé.
CASTAING.....	T	Physique II thermo (Orsay)
CURIEN.....	T	Minéralo & cristal
MOYSE	T	Physio. végé. (Orsay).
Mme CHARNIAUX-COTTON.....	T	Evolution des êtres organisés
POSSOMPES...	T	Zoologie
PULLMANN....	T	Chimie quantique
TEILLAC.....	T	Physique nuc. et radioactiv. (Orsay)
TONNELAT....	T	Bio physico chim (Orsay)
VILLE.....	T	Econométrie
WILLEMART...	T	Chimie PCB
DODE.....	T	Chimie (Orsay)
FREYMANN....	T	Recherches physiques
GUINOCHET....	T	Biolo végé SPCN (Orsay)
ROLLET.....	T	Chimie minérale
Mle JOSIEN....	T	Chimie SPCN
CHEVALLEY...	T	Géométrie algébrique et théorie des groupe
ARNOULT.....	T	Electronique Orsay
CHAPELLE....	T	Physique I (Orsay)
DELANGE.....	T	Mathématiques I (Orsay)
DENY.....	T	Mathé. géné. (Orsay)
GERMAIN.....	T	Mécanique théorique des fluides
LUCAS.....	T	Géologie
ALLARD.....	T	Chimie physique
BERTHELOT...	T	Physique des particules fondamentales (Orsay)
BRICARD.....	T	Météor et physique de l'atmosphère
Mme ALBE FESSARD	T	Psycho physio
FRIEDEL.....	T	Physique des solides (Orsay)
M. JULIA.....	T	Etudes des moléculaires complexes
LENDER.....	T	Biologie animal SPCN Orsay
MAGAT.....	T	Physico chimie des radio éléments
Melle QUINTIN..	T	Electrochimie
MONOD.....	T	Chimie du métabolisme
BENOIT.....	T	Physio animale Orsay
DE POSEEL....	T	Analyse numérique
CHARLOT.....	T	Chimie analytique
LEMEE.....	T	Ecologie végétale Orsay
GUERIN.....	T	Chimie MPC Orsay
CHATELET.....	T	Chimie PCB
JEAN.....	T	Physio nucléaire Orsay
MATTLER.....	T	Physique SPCN
BERGERARD...	T	Zoologie Orsay
BERTEIN.....	T	Electronique Orsay
BOUISSIERES...	T	Radiochimie
Mme COUTURE	T	Thermo et méca physique
ELLEMBERGER	T	Géologie des grandes régions du globe (Orsay)
FRANC.....	T	Biologie animale PCB
SCHNELL.....		Botanique tropicale
STLKOWSKI....	T	Physiologie végétale
ACHER.....	T	Chimie biologiques
BAUDOIN.....	T	Biologie animale PCB
BEAUMONT.....		Biologie animale SPCN
BLAMONT.....		Géophysique ionosphère
BOUREAU.....	T	Botanique
CURIE D.....		Physique MGP
DURAND DELGA	T	Géologie
FREON.....	T	Chimie organique Orsay
HELLER.....	T	Physiologie végétale
TORTRAT.....	T	Calcul des probabilités
CAILLEUX.....	T	Géologie SPCN
MAGNAN.....		Physique électricité
DAUDEL.....	T	Mécanique ondulatoire appli à la chimie théo & à la phy nucléaire.
Mle FOURCROY.		Biologie végétale SPCN

Mme CHOQUET BRUHAT		Mécanique analytique et méca céleste
Mle VEIL	T	Physiologie générale
LWOFF	T	Microbiologie
SŒSTRUNCK	T	Méca phys & experimentale
LACOMBE	T	Métallurgie des métaux nucléaires (Orsay)
BROCHARD	T	Physique PCB (Orsay)
CABANNES	T	Mécanique générale
LESIEUR	T	Math I (Orsay)
MAZET	T	Méca géné (Orsay)
CAIRE		Géogra physique et géo dynamique
COMOLET	T	Méca des fluides
CORABOEUF	T	Physio animale (Orsay)
DELLOUE	T	Physique de l'exosphère
GORENFLOT		Botanique II (Orsay)
HOUILLON		Biologie animale PCB
JULLIEN J		CHIMIE SPCN (Orsay)
MALGRANGE	T	Technique mathé de la phys. (Orsay)
OLIVIER		Antrophologie
NOZERAN	T	Botanique II (Orsay)
BLANC-LAPIERRE	T	Physique ENS (Orsay)
CHEVAUGEON	T	Botanique (Orsay)
KAHANE	T	Mathématiques (Orsay)
SAMUEL	T	Math ENS féminines
KOURGANOFF	T	Astronomie (Orsay)
THIRY	T	Méca céleste
ABELES		Physique SPCN
AMAT	T	Physique PCB
AUBOIN	T	Géologie
Mme BENOIT-GUEUTAL	T	Physique nucléaire et radioactivité (Orsay)
BOUGIS		Biologie marine Villefranche/mer
BRUHAT	T	Math MPC
BRUNN	T	Géologie historique Orsay
CHABRAL	T	Physique MGP (Orsay)
DEHEUVELS	T	Math propé
D'ESPAGNAT	T	Physique théorique (Orsay)
FURON	T	Géologie SPCN
Mme GANS	T	Génétique
GENEVES		Biologie végétale PCB
GUILBERT		Physique CUS Orléans
HUPE	T	Pétrographie
HOLLANDE	T	Bio. géné.
LIONS	T	Analyse numérique
HAITTE	T	Chimie PCB
MEYER		Physique propé
NICOLAS		Géologie appliquée
PANIGEL		Biologie générale
RAVIER		Pétrographie
ROSEAU	T	Méca théorique des fluides
ROUBINE		Electronique
SILBER	T	Chimie PCB
UEBERSFELD	T	Electronique
YVON	T	Théories physiques
HERVE	T	Mathématiques
NERON	T	Math MPC (Orsay)
Mme PECKER WIMEL	T	Astrophysique
BALKANSKY		Physique MPC
LE CORRE	T	Electricité
DELCROIX	T	Physique théorique (Orsay)
GOURDIN	T	Physique théorique (Orsay) des hautes énergies
LEHMANN	T	Phys exp des hautes énergies
NATAF	T	Physique nucléaire et radioactivité (Orsay).
ECHALIER		Biologie animale PCB
BARRAUD		Physiol. cellulaire
LIORET		Physiologie végé Orsay
DARS		Géologie structurale & géol. appli.
CAMEFORT	T	Botanique (agrégation)
VICHNIEWSKY	T	Mécanique industrielle
BLAQUIERE		Electronique (Orsay)
ARNOUS	T	Physique théorique
TATIBOUET		Chimie (CSU Orléans)
MALL	T	Math propé (Orsay)
GAUDEMAR		Chimie propé
PEREZ Y JORBA		Physique Exp des Hautes énergies (Orsay)
DAVID	T	Chimie (agrégation Orsay)
BROUSSE	T	Mécanique théorique
ROSCH	T	Astronomie
GUY	T	Physique expérimentale
LAZARD		Math MPC
MOREL Pierre		Physique MPC
ARSAC		Programmation
LEFEBVRE		Chimie MPC
CHAPEVILLE		Biochimie
BENOIT		Physique CPEM
RIO		Chimie CPEM
JAUZEIN		Géologie ENS
PREVOST Geor		BV CPEM
FAVARD P.		BA CPEM
VILKAS		Chimie CPEM
Mle PICINI		Chimie CPEM
LEQUEUX		Astronomie
COHEN TANNOUDJI		Physique MPC
TAVERNIER		Physique CPEM
Mme ROIZEN		" "
DURAND M.		BA SPCN
PASCAUD		Physiologie
Mme PETIT		BA CPEM
BROUSSE		Géologie Orsay
CAGNIAC		Physique agrégation Orsay
LEBERRE		Zoologie (Orsay)
SCHEFFER		Microbiologie (Orsay)
de GENNES		Physique des solides (Orsay)
RIOU		Physique nuclé exp Orsay
CLAUSER		Chimie biol. Orsay
CHEVALIER		Physio animale Orsay
JANCOVICI		Physique atomique Orsay
FALK-VAIRANT		Physique nucléaire Orsay
FETIZON		Chimie propé Orsay
CERF		Mathématiques Orsay

Secrétaire général..... R. POULAIN

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION et PLAN DU TRAVAIL 2

Rappel taxinomique 7

CHAPITRE I

Rappel historique des modifications provoquées dans les antigènes des Salmonella :

1 - Modifications des antigènes flagellaires sous l'influence d'immun-sérums 9

2 - Modifications des antigènes somatiques du groupe E . Importance du travail de FREEMAN sur la conversion de Corynebacterium diphtheriae non toxinogène en C. d. toxinogène par la lysogénisation 10

3 - Conversion du facteur 1 chez les Salmonella des groupes A B D 14

4 - Conversions chez les Salmonella du groupe C 14

5 - Conversions chez les Shigella 15

6 - Conversion chez Pseudomonas aeruginosa 15

7 - Conversions chez B. megatherium 15

8 - Conversion chez les streptocoques 16

9 - Conversions chez les staphylocoques 16

CHAPITRE II

Etudes sur la conversion du facteur 27 :

A - Conversions lysogéniques ayant trait au facteur 27 chez les Salmonella du groupe B 19

B - Action du phage 27 sur des sérotypes de Salmonella des

groupes A B D ne possédant pas à l'état sauvage le facteur 27 25

1 - Action du phage 27 sur divers sérotypes de Salmonella 27

2 - Etude des agglutinines produites par les lapins immunisés par les bactéries converties 30

3 - Intéraction entre le facteur 27 néoformé et les autres facteurs 0 (1 et 12) 33

4 - Variations de la sensibilité des cultures aux diverses préparations de phage 27 35

CHAPITRE III

Conversions ayant trait aux facteurs 1 :

A - Acquisition simultanée des facteurs 1 et 37 par les Salmonella du groupe G sous l'effet de la lysogénisation..... 37

B - Acquisition du facteur 1 par les Salmonella du groupe R sous l'effet de la lysogénisation 44

Etude sérologique du facteur 1 du groupe R 49

C - Acquisition du facteur 1 par les Salmonella du groupe T sous l'effet de la lysogénisation 51

Etude sérologique du facteur 1 du groupe T 53

D - Rapports antigéniques entre des bactériophages susceptibles de faire acquérir le facteur 1 à des Salmonella des groupes A B D - G - R - T 55

CHAPITRE IV

Conversions ayant trait aux facteurs 6 et 14 :

1 - Acquisition des facteurs 6, 14 par les sérotypes du groupe K (0:18) sous l'effet de la lysogénisation 59

2 - Acquisition des facteurs 6, 14 par les sérotypes du sous-groupe C_1 sous l'effet de la lysogénisation..... 62

CHAPITRE V

Conversions par les phages epsilon 15 et epsilon 34 :

1 - chez les Salmonella du groupe E 65

2 - chez les Salmonella du sous-groupe D_2..... 68

CHAPITRE VI

Essais de conversions lysogéniques dans d'autres groupes (Facteur 5 du groupe B, facteur Vi, facteur 12_2, facteur 1,25 du groupe H, facteur 1 du groupe X, facteur commun des groupes 42 et 54) 77

CHAPITRE VII

A - Lysogénie des formes R 81

B - Caractères des phages convertisseurs isolés 82

C - Caractères transmissibles lors de la conversion :

1 - Spécificité des antigènes flagellaires 84

2 - Streptomycine-résistance 88

3 - Essais de transmission pour conversion de caractères de virulence et de non virulence pour la souris... 90

D - Etude in vivo des anticorps opsonisants correspondant aux antigènes convertis 91

E - Action "guérissante" des sérums antiphages 93

F - Conversion in vivo 94

DISCUSSION 95

RESUME .....

BIBLIOGRAPHIE .....

oOo

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546825_0069

INTRODUCTION

Le travail a été effectué dans l'intention de rechercher la corrélation chez les Salmonella entre la présence de certains facteurs antigéniques O et celle du génome de certains phages. Après avoir démontré la validité de cette hypothèse pour les facteurs 27 du groupe B, le facteur 1,37 du groupe G, 1 du groupe R, $1,42_2$ du groupe T, 6,14 du groupe K, 14 du sous-groupe C_4, 15 et 34 du sous-groupe D_2, nous montrerons que les phages isolés peuvent faire acquérir ces facteurs aux sérotypes de Salmonella de ces groupes qui en sont démunis, ou même dans les cas du phage 27, à des sérotypes appartenant à des groupes voisins (A et D) qui ne les possèdent jamais à l'état sauvage.

Nous désignerons sous le nom de "conversion bactériophagique" l'acquisition d'un facteur O par une bactérie sous l'action d'un bactériophage. Les bactéries qui élaborent ce facteur et qui contiennent le génome phagique seront dites "converties". Le terme de conversion bactériophage nous paraît préférable, parce que plus général à celui de conversion lysogénique puisque la conversion peut être observée avec des phages virulents. Le terme de "conversion" a été proposé en 1955 par J. LEDERBERG.

oOo

PLAN DU TRAVAIL

Après un bref rappel des critères de la classification des Salmonella, nous ferons dans un premier chapitre une revue bibliographique des travaux portant sur les modifications provoquées dans la constitution antigénique des Salmonella.

Après avoir rappelé l'importante découverte de FREEMAN (1951) démontrant la corrélation entre l'état lysogène du bacille diphtérique et la toxinogénèse, nous citerons les publications relatives aux conversions obtenues chez les Shigella, Pseudomonas aeruginosa, B. megatherium et Streptocoques.

Nous rapporterons ensuite nos propres résultats.

Le deuxième chapitre sera consacré à la conversion bactériophagique du facteur 27. Ce facteur existe chez des souches sauvages de certains sérotypes du groupe B et sa présence est liée à celle d'un phage que nous avons dénommé phage 27. Ce phage peut faire élaborer le facteur 27 chez des mutants 27- de sérotypes habituellement 27+ (p. 19).

Mais il peut aussi convertir des souches de sérotypes du groupe B qui ne possèdent jamais à l'état sauvage le facteur 27, et même des souches des groupes A et D tels que S. paratyphi A et S. typhi (p. 25). Ceci nous a amenés à étudier de près la sérologie des facteurs 27 obtenus par conversion de sérotypes divers par un même phage, et à démontrer l'hétérogénéité de ces facteurs (p. 30). L'apparition des facteur 27 est indépendante de celle des deux autres facteurs qui peuvent exister chez ces souches, les facteurs 1 et 12 (p. 33).

Les conversions ayant trait au facteur 1 feront l'objet du chapitre III . La présence de ce facteur chez la bactérie est liée à celle du matériel génétique de phages dans les groupes G (p. 37) R (p. 44) et T (p. 51). Mais les facteurs 1 de ces divers groupes ne

sont pas sérologiquement identiques (p. 53) et dans le groupe G le facteur 1 est toujours associé au facteur 37, dans le groupe T au facteur 42_2. Nous possédons ainsi actuellement quatre groupes de phages convertisseurs pour le facteur 1 : ceux des groupes ABD, ceux des groupes G, R et T. L'étude des rapports antigéniques entre les phages de ces quatre groupes a montré qu'ils étaient sérologiquement différents d'un groupe à l'autre, comme ils diffèrent ainsi nettement dans deux spécificités d'action.

Les conversions ayant trait aux facteurs 6 et 14 seront rapportées dans le chapitre IV (p. 59). Dans le groupe K (0:18) existe un sérotype dont la formule O est 6, 14, 18, les autres sérotypes ne possèdant que le facteur 18. Il est possible de faire acquérir les facteurs 6 et 14 à divers sérotypes 0:18 en les lysogénisant par un phage issu d'une culture 6, 14, 18. Ceci démontre qu'il n'est pas logique de continuer à donner deux noms différents à S. siegburg (6, 14, 18:z_4z_{23}) et à S. cerro (18:z_4z_{23}).

Les Salmonella du sous-groupe C_4 ont pour formule 0 (6) (7)14, celles du sous-groupe C_1 6, 7. Nous avons montré que la formule (6)(7)14 correspond à la variante lysogénisée des Salmonella de formule 6, 7 (p. 62) . L'individualisation du sous-groupe C_4 ne doit, en conséquence pas être maintenue.

Dans le chapitre V nous rapporterons tout d'abord des expériences d'isolement des phages Ɛ 15 et Ɛ 34 de Salmonella des sous-groupes E_2 et E_3, et les résultats d'essais de conversion de Salmonella du sous-groupe E_1 par ceux-ci, confirmant ainsi les travaux des auteurs japonais (p.). Ayant acquis au cours de travaux non publiés la certitude que les sérotypes classés dans le sous-groupe D_2, dont la formule 0 est (9)46 possèdaient aussi le facteur 0:3, nous avons rechercher leur sensibilité aux phages 15 et 34. Il fut possible de les convertir d'abord par le premier, puis par le second de ces phages et d'obtenir des sérotypes dont la formule 0 est 3, 9, 46, 15, 34, 12_2, les trois derniers facteurs étant produits après double lysogénisation (p. 65).

Nous avons pensé qu'il était utile de rapporter brièvement dans le chapitre VI des résultats négatifs obtenus avec des systèmes dans lesquels nous n'avons pas pu démontrer la corrélation entre certains facteurs somatiques et un phage : groupes H et X, facteurs 5 et Vi (p. 77).

Nous avons rassemblé dans le chapitre VII des résultats de diverses expériences effectuées avec les système convertisseurs : Les variantes R provenant de variantes S lysogénisées restent lysogènes et le phage qu'elles libèrent a la possibilité de convertir des formes S de sérotypes du même groupe 0 (p. 81). Les études morphologiques effectuées au microscope électronique ont permis de faire

une observation inattendue : tous les phages convertisseurs ont une morphologie très particulière (p. 82).

Tous les phages convertisseurs sont aussi transducteurs, et ceci est particulièrement aisé à démontrer avec les antigènes H (p. 84) .

Si la spécificité des antigènes nouvellement élaborés par la conversion est prouvée par les réactions d'agglutinations, les études sérologiques in vivo utilisant des opsonines n'avaient, jusqu'à présent, pas été employées. En injectant à des souris des bactéries marquées à l'iode radioactif, il a été possible de retrouver avec une sensibilité élevée la spécificité des nouveaux antigènes (p. 91). Mais la conversion d'une Salmonella avirulente pour la souris par un phage convertisseur issu d'une souche virulente, n'a pas entraîné une modification décelable de la virulence. L'expérience inverse ne permet pas non plus d'observer un changement de virulence. Ces expériences ont permis de démontrer que la virulence n'est pas liée à la constitution antigénique des bactéries (p. 90).

Comme il était a priori vraisemblable, les phénomènes de conversion dé nontrés in vitro peuvent se produire in vivo, comme aussi les transductions : les phages peuvent intervenir pour modifier in vivo la formule antigénique des Salmonella, et il est possible de le démontrer en utilisant des bactéries réceptives résistantes à la streptomycine (p. 94).

Enfin dans la discussion (p. 95) nous envisagerons le rôle des phages dans les changements de ce que certains veulent appeler des "espèces" chez les Salmonella, et les différences qui existent entre la conversion qui exige la présence dans la bactérie du génome phagique, et la transduction où le phage ne sert que de vecteur de caractères génétiques transmis d'une bactérie à l'autre, n'apportent rien de lui-même dans ce phénomène.

oOo

RAPPEL TAXINOMIQUE

Les Salmonella constituent l'un des 11 groupes de la famille des Enterobacteriaceae. La classification de ces bactéries est basée sur la détermination sérologique des trois types d'antigènes qu'elles peuvent posséder :

O : antigène de la paroi,

K : antigène d'enveloppe. Le seul antigène K qui puisse exister chez les Salmonella est dénommé Vi. On ne l'a rencontré que chez S. typhi, S. paratyphi C et récemment chez S. dublin (LE MINOR et coll. 1954).

H : antigène flagellaire.

La méthode de saturation des agglutinations de Castellani a permis d'individualiser 61 facteurs O différents désignés par des chiffres allant de 1 à 61. Certains de ces facteurs sont possédés par des sérotypes différents qui sont,pour cette raison, rassemblés en "groupes O", chacun de ces groupes étant caractérisé par un facteur O particulier.

2 pour le groupe A

4 pour le groupe B

7 pour le groupe C_1-C_4

9 pour le groupe D

3 pour le groupe E

13 pour le groupe G

18 pour le groupe K

40 pour le groupe R

42 pour le groupe T

qui sont ceux dont il sera question dans ce travail.

D'autres facteurs O permettent de subdiviser ces groupes O en sous-groupes. Par exemple les Salmonella possédant les facteurs

3, 10 sont rangées dans le sous-groupe E_1

3, 15 sont rangées dans le sous-groupe E_2

3, 15, 34 sont rangées dans le sous-groupe E_3

1, 3, 19 sont rangées dans le sous-groupe E_4

Deux facteurs désignés 1 et 12 existent dans plusieurs groupes et ne sont donc pas caractéristiques de deux-ci : on peut rencontrer le facteur 1 dans les groupes A, B, D, E, G, R, T, X, 51, le facteur 12 dans les groupes ABD.

Les antigènes flagellaires sont désignés par des lettres ou des chiffres. Ils sont habituellement mono ou diphasiques. Le problème des variations de phases des antigènes H sera envisagé au début du rappel historique.

Les sérotypes de Salmonella sont désignés par leur formule antigénique. Par exemple :

S. typhi 9, 12 (Vi) : d possède les facteurs 0:9 et 12, peut posséder l'antigène Vi et a un antigène H monophasique désigné d,

S. anatum 3, 10:eh:1, 6 possède les facteurs 0:3 et 10, un antigène H diphasique dont la première phase est subdivisible en sous-facteurs e et h, la phase 2 en sous-facteurs 1 et 6.

Les sérotypes de Salmonella sont désignés par des noms qui correspondent aux espèces de la nomenclature linéenne. Les premiers individualisés portent un nom de syndrome avec parfois une indication de l'origine zoologique (ex. : S. typhi murium, S. abortus equi), les autres le nom de la localité où elles ont été isolées la première fois :

Ex. : S. london. S. newport, S. tananarive.

Actuellement environ 900 sérotypes différents sont reconnus.

oOo

CHAPITRE I

RAPPEL HISTORIQUE DES MODIFICATIONS PROVOQUEES DANS LES ANTIGENES DES SALMONELLA

1 - LES MODIFICATIONS DES ANTIGENES FLAGELLAIRES SOUS L'INFLUENCE D'IMMUN-SERUM ont fait l'objet de nombreuses études depuis qu'en 1922 F.W. ANDREWES décrivit les phases dites spécifiques et non spécifiques de ces antigènes.

Lorsqu'on cultive une Salmonella mobile en présence du sérum anti-H agglutinant cette souche, deux éventualités peuvent se présenter : ou la culture est immobilisée, on peut en conclure qu'elle était monophasique, c'est-à-dire qu'elle ne possèdait qu'une seule spécificité de son antigène H, ou bien elle n'est pas immobilisée et la culture, devenue inagglutinable par le sérum en présence duquel elle a été cultivée, est agglutinable par un autre sérum anti-H. Dans ce cas elle est dite : diphasique. Elle pourra être immobilisée par culture en présence des deux sérums anti-H ajoutés simultanément au milieu. Par culture en présence de l'un ou de l'autre de ces sérums, on peut obtenir à volonté l'une ou l'autre de ces deux "phases". STOCKER (1946) a montré que l'antisérum jouait le rôle d'agent sélecteur de mutants spontanés apparaissant dans les cultures avec des fréquences de 10^{-3} à 10^{-5}.

Jusqu'en 1960, on connaissait seulement l'existence de deux phases naturelles au maximum chez les Entérobacteriaceae. A cette époque, EDWARDS, FIFE et LE MINOR signalèrent la présence de trois phases dans l'antigène H de certaines Arizona, LE MINOR et EDWARDS dans celui de certaines Salmonella et récemment EDWARDS, SAKAZAKI et KATO (1962) de quatre phases dans une culture de S. mikawashima.

2 - MODIFICATIONS DES ANTIGENES SOMATIQUES DU GROUPE E.

Par une méthode analogue de culture en présence de sérum, BRUNER et EDWARDS ont réussi en 1948 à obtenir des changements dans les antigène 0.

En cultivant S. anatum (3, 10:eh:1, 6) et S. meleagridis (3, 10:eh:lw) sur une gélose semi-solide additionnée d'un sérum anti-10 spécifique préparé par saturation, ils ont pu faire apparaitre le facteur 15 à la place du facteur 10. Les cultures avaient donc acquis des constitutions antigéniques respectivement identiques à celles de S. newington (3, 15:eh:1, 6) et S. cambridge (3, 15:eh:lw).

Ces cultures ainsi modifiées pouvaient être rétablies dans leurs formes primitives (3, 10) en les cultivant en présence d'un sérum anti-15 spécifique.

Bien que les auteurs aient admis que ces changements antigéniques étaient très probablement dus à l'action des anticorps contenus dans les sérums spécifiques, ils n'avaient pu écarter complètement l'hypothèse d'une intervention possible de facteurs libérés par les bactéries vivantes qui avaient été utilisées pour effectuer la saturation des sérums. Or, il est très vraisemblable que leur sérum était contaminé par un phage tempéré provenant de ces bactéries.

Plus tard, en 1950, au Japon, UETAKE et OBARA puis NAKAGAWA (1957) ont cultivé S. newington (3, 15:eh:1, 6) et S. newbrunswick (3, 15:lv:1, 7) en gélose semi-solide additionnée de sérum anti-15. Ils ont obtenu des cultures dans lesquelles le facteur 15 était remplacé par le facteur 10. Leur formule antigénique correspondait donc désormais à celle de S. anatum (3, 10: eh:1, 6) et de S. give (3, 10 : lv : 1, 7). La même modification fut possible en utilisant des sérums anti-15 préparés par saturation d'un sérum 3, 15 par des bactéries 3, 10 chauffées pendant une heure à 100°, ce qui éliminait, dans le changement du complexe 3, 15 en complexe 3, 10, toute possibilité d'une intervention directe des bactéries vivantes ou de facteurs thermolabiles les accompagnant.

ISEKI et SAKAI (1953) utilisant divers sérotypes du groupe E, confirmèrent les résultats mentionnés ci-dessus de changement dans les antigènes O de ce groupe sous l'influence des sérums. Ils montrèrent, de plus, que les filtrats de culture 3, 15 contenaient un agent capable de transformer en 3, 15 l'antigène O des bactéries 3, 10 ; cet agent était inactivé par le chauffage à 70° pendant quinze minutes ; il n'était pas dialysable ; il était précipitable par deux volumes de méthanol à froid ; il résis-

tait à la ribonucléase et à la désoxyribonucléase, ce qui éliminait l'intervention possible des acides nucléiques.

Son action apparaissait plutôt liée à celle d'un bactériophage tempéré libéré par les bactéries 3, 15. Celles-ci étaient en effet lysogènes, et l'aptitude modificatrice des filtrats de souches possédant les facteurs 3, 15 sur les souches 3, 10 disparaissait lorsqu'on les traitait par le sérum anti-phage.

Ces faits conduisirent ISEKI et SAKAI à penser que l'agent modificateur n'était autre que le bactériophage lui-même. Cette hypothèse paraissait d'autant plus vraisemblable que peu de temps auparavant FREEMAN (1951), FREEMAN et MORSE (1952) avaient démontré l'importance de la lysogénie sur l'élaboration de certaines substances par les bactéries : en lysogénisant des bacilles diphtériques non toxinogènes au moyen d'un bactériophage tempéré provenant d'une souche lysogène et toxinogène de Corynebacterium diphtheriae, la culture devient toxinogène. La toxine diphtérique n'est produite que par les cellules bactériennes hébergeant un bactériophage. Cette découverte fondamentale permit de suspecter le rôle essentiel que pouvaient jouer les phages dans la constitution antigénique des Salmonella et c'est aux auteurs japonais que revient le mérite de l'avoir démontré pour la première fois. Les bactéries dont l'antigène 3, 10 avait été transformé en 3, 15 étaient devenues lysogènes et le phage qu'elles pouvaient désormais libérer comme le phage de lysogénie spontanée de S. newington, agissait sur les bactéries à antigène 3, 10 et changeait celui-ci en 3, 15.

La présence du facteur 15 dépend donc de l'état lysogène de la culture. Le phage "convertisseur" de la modification antigénique décrite par ISEKI et SAKAI a été dénommé epsilon, puis epsilon 15 pour le distinguer des phages intervenant dans la conversion concernant l'antigène 34 dont nous parlerons plus loin. Au cours de toutes les modifications des antigènes O rapportées dans ces travaux, les antigènes H étaient demeurés inchangés.

Ces études sur les Salmonella du groupe E ont été reprises et complétées par UETAKE et NAKAGAWA (1955), et BARKSDALE (1959) en fit une revue détaillée.

UETAKE (1956) HARADA (1956), NAKAGAWA (1957) montrèrent ensuite que les Salmonella du sous-groupe E_3 (3, 15, 34) produisaient un phage actif sur les souches du sous-groupe E_2 (3, 15). Celui-ci leur fait acquérir le facteur 34 en les rendant lysogènes pour un second phage qui a été dénommé epsilon 34.

UETAKE, LURIA et BURROWS ont publié en 1958 un important travail sur la conversion par les phages epsilon 15 et epsi-

lon 34, montrant que la présence du facteur 15 est déterminée par celle du phage epsilon 15, le facteur 10 par son absence. Le facteur 15 est décelable, chez les bactéries possédant l'antigène 3, 10 cinq minutes après l'infection par le phage epsilon 15. Trente minutes après, 75 p. 100 des cellules ont acquis le récepteur pour le phage epsilon 34 virulent, récepteur que ne possèdaient pas les bactéries 3, 10. Les bactéries qui n'étaient pas sensibles au phage epsilon 34 avant l'infection par le phage epsilon 15 lui sont donc devenues sensibles après celle-ci.

Si au lieu d'employer le phage epsilon 15 tempéré, on emploie son mutant virulent, on voit aussi les cellules devenir rapidement agglutinables par le sérum anti-15. L'élaboration du facteur 15 ne nécessite donc pas la présence du prophage, car ce facteur est décelable chez les bactéries qui vont être détruites par le phage epsilon 15 virulent.

Tout se passe comme si après infection par le phage epsilon 15 la synthèse du facteur 10 était arrêtée tandis que les bactéries synthétisent le nouveau facteur 15. En effet les bactéries sont, peu après l'infection agglutinables à la fois par les anti-sérums 10 et 15. Puis l'agglutinabilité du facteur 10 disparaît par dilution de ce facteur dans les bactéries en multiplication. UETAKE et HAGIWARA (1960) ont remarqué que, après infection de bactéries 3, 15 par le phage epsilon 34, la formation du facteur 34 est accompagnée d'une perte partielle du facteur 15, ce qui leur fit supposer que le facteur 15 serait un précurseur du facteur 34.

La réversion 3, 15 $\longrightarrow$ 3, 10 pourrait se faire spontanément (comme l'avaient observé en 1951 YAMADA et SAKASAKI), mais elle est plus facile à obtenir en présence du sérum anti-phage epsilon 15 (ISEKI et SAKAI, 1953).

MATSUMOTO, SERIZAWA et ISEKI (1959) ont supposé que le sérum anti-15 n'agit pas comme inducteur, mais comme sélecteur, en inhibant la croissance des bactéries 3, 15 sans gêner celle des bactéries 3, 10 provenant des précédentes par perte du génome phagique. Il est aussi vraisemblable que le sérum 15 contient des anticorps antiphages qui protègent, dans une population mixte, les bactéries 3, 10 contre une infection par les phages libérés par les bactéries 3, 15 lysogènes.

En 1959, UETAKE transforme l'antigène 3, 10 que possèdait un Citrobacter en 3, 15 puis 3, 15, 34, en le lysogénisant successivement par les phages tempérés libérés par des cultures de Salmonella 3, 15 et 3, 15, 34.

HARADA (1959) a purifié, par isolements successifs et action des sérums anti-phages correspondants, les phages

epsilon 15 et epsilon 34. Le phage epsilon 34 est plus résistant que le phage epsilon 15 à l'action de la chaleur. Il ne peut agir directement sur les souches 3,10 ; mais il peut le faire après que le phage epsilon 15 les a transformées en 3,15. Ceci explique pourquoi, sous l'action des phages présents dans les cultures de Salmonella 3, 15, 34, (qui produisent à la fois les phages epsilon 15 et epsilon 34), les taux de conversion de 3,10 en 3,15 ,54 sont inférieurs à ceux de la conversion de 3,15 en 3,15,34 car la première nécessite deux étapes : 3,10 $\longrightarrow$ 3,15 et 3,15 $\longrightarrow$ 3,15,34.

D'autre part, en 1958, ISEKI et HAMANO (1958), utilisant le phage epsilon 34 produit par S. thomasville, ont pu transduire chez S. newington (du sous-groupe E_2) soit la résistance à la streptomycine, soit des facteurs nutritionnels, soit la possibilité de faire fermenter certains sucres. Toutes les bactéries auxquelles un caractère génétique avait été transduit acquirent le pouvoir d'élaborer à la fois le phage epsilon 34 et le facteur 34.

Au cours d'expériences de conversion bactériophagique, MATSUMOTO, SERIZAWA et ISEKI (1959) ont confirmé les résultats de HERSHEY et CHASE : quand le phage est marqué au ^{32}P, les bactéries converties deviennent beaucoup plus fortement radioactives que les bactéries non converties. Ce résultat apporte une preuve supplémentaire du rôle des bactériophages dans la conversion; seules les bactéries , devenues fortement radioactives, c'est-à-dire, seules les bactéries infectées par l'ADN bactériophagique marqué par ^{32}P, subissent la conversion.

Les auteurs n'ont, au contraire, trouvé aucune différence significative quand le phage est marqué au ^{35}S qui est incorporé dans l'enveloppe de protéine des corpuscules bactériophages.

R.W. ROBBINS et T. UCHIDA (1962) UCHIDA ROBBINS et LURIA (1963), ont élucidé les changements qui survenaient dans les polyosides O responsables de la spécificité des facteurs 3,10, 3,15 et 3,15,34 lors de la conversion qui permet de les transformer successivement l'un en l'autre.

Le polyoside du facteur 3,10 est un α acétyl-galactosyl-mannosyl-rhamnose, celui du facteur 3,15 un β galactosyl-mannosyl-rhamnose. Le rôle du phage epsilon 15 consiste à désacétyler et à changer une liaison α en β, celui du phage epsilon 34 à rajouter un α glucosyl en bout de la chaîne responsable de la spécificité 3,15.

3 - CONVERSION DES BACTERIES 2, 12, 4, 12 et 9, 12 EN BACTERIES POSSEDANT EN PLUS LE FACTEUR 1 :

Les Salmonella des groupes A, B, D, peuvent posséder, en plus des facteurs somatiques 2, 4 et 9 qui sont respectivement caractéristiques de chacun de ces groupes, le facteur 1. En outre, leur antigène somatique contient le facteur 12 et éventuellement, pour le groupe B, d'autres facteurs tels que 5 et 27. ISEKI et KASHIWAGI (1955 et 1957) ont montré que la production du facteur somatique 1 est gouvernée par le phage tempéré "iota" : les souches possédant le facteur 1 qu'ils ont étudiés sont polylysogènes. L'un des phages qu'elles élaborent (le phage iota) peut lysogéniser les souches sans facteur 1 et leur faire acquérir en même temps ce facteur. Ce phage peut aussi transduire des caractères nutritionnels et des spécificités flagellaires.

ZINDER (1957), STOCKER (1958) ont étudié les changements antigéniques se produisant chez une Salmonella typhi murium 4, 12 sous l'influence du phage PLT_{22} : les bactéries acquièrent la propriété de synthétiser le facteur 1, tandis que la culture devenait lysogène et produisait le phage capable d'induire la production du facteur 1. Tous les essais pour mettre en évidence le facteur 1 dans les bactéries non lysogènes ont échoué . ZINDER a pu montrer que le facteur 1 nouvellement formé est décelable environ sept minutes après l'infection et qu'il est produit aussi bien sous l'influence des phages tempérés que sous celle des phages virulents.

B.A.D. STOCKER, A.M. STAUB, R. TINELLI et B. KOPACKA (1960) ont montré que la chaîne polysodique responsable de l'agglutinabilité 1 était un α glucose-galactose-mannose. Le rôle du phage consiste à induire l'expression d'un enzyme capable de fixer un α glucose sur le galactose terminal.

4 - CONVERSIONS DANS LE GROUPE C_2 DES SALMONELLA

BARON, FORMAL et WASHINGTON (1957) ont obtenu, en faisant agir sur S. newport (6, 8) un phase dérivé de S. kentucky (8, 20) un nouveau sérotype de formule somatique 6, 8, 20. ISEKI et MATSUMOTO (1959) confirmèrent ces résultats et montrèrent que S. kentucky produisait deux phages différents, qui, tous deux pouvaient lysogéniser les bactéries 6, 8 mais dont un seul était capable de leur faire acquérir l'antigène 20. Ce dernier est le plus résistant à la chaleur. Les filtrats de S. corvallis contiennent aussi les deux types de phages, tandis que S. emek et S. albany qui possèdent aussi l'antigène 8, 20 ne produisent que le phage capable de faire acquérir le facteur 20 aux souches 6, 8 Ce phage convertisseur peut transduire la résistance à la streptomycine, tandis que l'autre phage ne peut le faire. Il peut aussi,

à une fréquence analogue (10^{-6}) transduire le pouvoir de faire fermenter l'inositol. Le transfert simultané de la streptomycino-résistance et du pouvoir de faire fermenter l'inositol n'a pas été observé. Les bactéries chez lesquelles s'est produite l'une ou l'autre de ces transductions ont en même temps acquis la possibilité de synthétiser le facteur 20.

D'autre part, ESCOBAR et EDWARDS (1964) viennent très récemment de signaler dans une courte note qu'en étudiant 100 souches de S. cholerae suis var. kunzendorf ils ont trouvé 88 cultures possédant le facteur 6_1 et 13 possédant le facteur 6_2. Les formules O respectives étaient 6_1, 7 et 6_2, 7. Toutes les souches possédant les facteurs 6, 7 étaient lysogènes. Le phage qu'elles hébergent est actif sur les souches 6_2, 7 et convertit celles-ci en leur faisant acquérir la formule 6_1, 7.

5 - CONVERSION CHEZ LES SHIGELLA

Chez les Shigella, MATSUI (1958) a mis également en évidence des phénomènes de conversion phagique des types 1a - 4a - et 3b - 4b. En 1959, ISEKI et HAMANO ont montré que la conversion était aussi possible dans le sens 1b - 4b et 2a - 4a.

6 - CONVERSION CHEZ LES PSEUDOMONAS AERUGINOSA

B.W. HOLLOWAY et G.N. COOPER (1962) ont montré que, quand leur souche de Pseudomonas 1 (qu'ils ont utilisée dans des expériences de conjugaison) est lysogénisée par le phage D_3, il se produirait une modification des antigènes somatiques de la bactérie qui peut être mise en évidence par des différences de sensibilité de la souche originelle et de la souche lysogénisée aux opsonines de la souris normale. Les résultats de l'analyse antigénique font émettre aux auteurs la supposition que la différence antigénique entre les deux souches ne porte que sur un seul facteur.

7 - CONVERSION CHEZ LES BACILLUS

H. IONESCO (1953) a montré que la présence d'un prophage particulier modifiait l'aspect morphologique des colonies de B. megatherium. La perte du prophage amène la restauration de l'aspect normal des colonies.

8 - CONVERSION CHEZ LES STREPTOCOQUES

Récemment ZABRISKIE (1964) a démontré le rôle d'un bactériophage tempéré dans la production de toxine érythrogène par les streptocoques du groupe A, confirmant la validité d'une observation de FROBISHER et BROWN datant de 1927. Ces auteurs avaient démontré qu'un "agent filtrable" isolé de cultures de streptocoques scarlatins hémolytiques pouvait induire la formation de toxine érythrogène par les souches ne provenant pas de malades atteints de scarlatine. Le produit extra-cellulaire néoformé était neutralisé par les antitoxines. Mais dans cette observation, comme dans celle faite en 1949 par BINGEL et qui confirme ces résultats, la nature de l'agent provoquant l'élaboration de toxine par des souches antérieurement non toxinogènes n'est pas mentionnée. ZABRISKIE vient de démontrer que l'"agent filtrable" en cause est un bactériophage tempéré, qu'il a pu isoler de streptocoques toxinogènes. Quand ce phage infecte des streptocoques non toxinogènes du groupe A elles deviennent toxinogènes. Les souches non lysogènes pour ce phage ne sont pas toxinogènes. La toxine produite par les souches lysogénisées est sérologiquement identique à celle produite par les souches sauvages toxinogènes. La quantité de toxine élaborée est proportionnelle à la quantité de particules de phage présents dans la culture. La toxine n'est cependant pas préformée puisque la rupture mécanique des cocci d'une culture non lysogène n'entraîne pas la libération de toxine. ZABRISKIE conclut en conséquence que les précurseurs métaboliques intervenant dans la production de phages murs entraînent la production de toxine. Tous les phages étudiés provenant de diverses souches toxinogènes, étaient antigéniquement identiques, de même que les toxines élaborées.

Cette observation est à rapprocher de celle de KJEMS (1958) qui a montré, au cours d'une série d'études sur les bactériophages des streptocoques, que la hyaluronidase apparaît dans les cultures de souches du groupe A qui ne produisent normalement pas cette enzyme quand on les infecte par un bactériophage provenant d'une souche qui en produit.

9 - CONVERSION CHES LES STAPHYLOCOQUES

ROSENDAL et coll. (1964) ont récemment rapporté dans une brève note un phénomène qu'ils attribuent à la conversion bactériophagique : chez les staphylocoques du lysotype 80, toutes les colonies lysogènes sont "Tween négatives", c'est-à-dire que la recherche de la lipase sur milieu au Tween est dans ce cas négative. La perte du phage amène une réversion au caractère "Tween-positif". Le phase issu des bactéries "Tween-négatives" lysogénise les bactéries "Tween-positives" en leur faisant acquérir le caractère "Tween-négatif". Il semble

donc que dans ce cas la lysogénisation amène, soit une inhibition de la diffusion extracellulaire d'un enzyme, secondaire à une diminution de la perméabilité de la membrane, soit un facteur inhibant l'activité de la lipase ou en bloquant la synthèse. Cette observation a une incidence sur la pathogénie des staphylococcies. L'analyse de la mortalité chez 554 malades ayant une bactériémie staphylococcique a montré en effet une corrélation entre la virulence et le caractère "Tween-négatif", La lysogénisation interviendrait donc dans le cas de ces staphylocoques pour en augmenter la virulence.

Ces travaux montrent tout l'intérêt que peut avoir la mise en évidence chez les bactéries du génome de certains phages quand il conditionne l'élaboration de substances antigéniques nouvelles, qu'elles restent localisées à la paroi bactérienne (antigènes somatiques) ou qu'elles diffusent dans le milieu où prolifèrent les microorganismes (exotoxines).

oOo

CHAPITRE II

ETUDES SUR LA CONVERSION DU FACTEUR 0:27

A - CONVERSIONS LYSOGENIQUES AYANT TRAIT AU FACTEUR 27 CHEZ LES SALMONELLA DU GROUPE B:

Ce travail commença par l'étude du facteur 27 de S. bredeney et S. schwarzengrund. Dans le schéma de Kauffmann-White, ces sérotypes sont décrits comme possédant le facteur 27. Or, nous avions rencontré à plusieurs reprises des souches "atypiques" de ces sérotypes, démunies de ce facteur. Ce matériel permit d'obtenir les premiers résultats positifs et incita à continuer les recherches dans d'autres sous-groupes O.

Lorsque leur équipement antigénique est complet, les souches de Salmonella bredeney ont pour formule 1, 4, 12, 27:lv:1, 7 et celles de Salmonella schwarzengrund, 1, 4, 12, 27:d:1, 7.

Parfois l'antigène 27 peut manquer à l'isolement chez l'un ou l'autre de ces sérotypes. Dans notre collection, nous possédons 20 souches de S. bredeney 27 + et 47 souches 27-, 10 souches de S. schwarzengrund 27+ et 9 souches 27-. Nous avons recherché si les souches 27+ ne seraient pas lysogènes et, dans l'affirmative, si le phage qu'elles libèreraient ne serait pas capable de provoquer l'apparition du facteur 27 quand on le fait agir sur les souches 27- des deux sérotypes.

Dans un premier temps, nous avons ensemencé sur gélose et en bouillon ordinaire une colonie parfaitement smooth de deuxième isolement de chacune des 30 souches 27+. Les cultures sur gélose ont servi à confirmer la présence ou l'absence du facteur 27 par l'agglutination sur lame au moyen d'un sérum préparé en injectant à des lapins S. schleissheim (4, 12, 27) chauffé deux heures à 100° et en saturant ce sérum par S. reading et s. abortus equi pour en enlever les anticorps 4 et 12. Ce sérum saturé n'agglutine que les souches possédant le facteur 27.

Les cultures en bouillon 27+ ont été filtrées sur bougie Chamberland L_3 et après contrôle de la stérilité, une goutte de chaque filtrat a été déposée à la surface de plaques en gélose nutritive ensemencées avec les souches 27 -.

Nous avons opéré de la même façon avec des filtrats des souches 27+ du Centre International des Salmonella (Copenhague): S. bredeney, S. tinda, S. dalat, S. entebbe, S. schleissheim et S. schwarzengrund ; toutes les souches de S. schwarzengrund essayées (que nous désignerons désormais par la lettre S accompagnée des numéros sous lesquels elles figurent dans notre catalogue) et toutes les souches de S. bredeney (que nous désignerons par la lettre B) se sont montrées lysogènes et leur phage est actif sur certaines souches 27-.

Le spectre de sensibilité des souches 27- aux phages contenus dans les filtrats est variable : certaines sont lysées par de nombreux d'entre eux ; d'autres par un très petit nombre, quelques souches enfin sont insensibles à tous.

Parmi les filtrats des souches internationales 27+, seuls ceux de S. tinda et de S. schwarzengrund ont agi sur quelques souches 27- .

Dans tous les cas où une action bactériophagique a été observée, nous avons effectué l'agglutination sur lame des cultures secondaires dans le sérum 27 et dans une solution hypertonique à 20 g de chlorure de sodium pour 1.000.

Certaines étaient devenues rough ; d'autres étaient restées 27-; d'autres enfin étaient restées smooth, mais elles étaient devenues agglutinables par le sérum 27.

Nous avons ensuite choisi comme filtrat capable d'opérer la conversion des cultures 27- en 27+, celui d'une souche de S. schwarzengrund 27+ (S 4/59) , et diverses souches 27-(S 1/57, S 3/57, S 3/58, B 7/58, B 13/58, B 15/60) chez lesquelles la conversion 27- ⟶ 27+ est obtenue sans difficulté.

Une provision de phage fut préparée à partir de S 4/59 par culture en bouillon ordinaire, agitée pendant six heures à 37°.

Conversion en milieu liquide - Dans l'intention de réaliser la conversion 27- ⟶ 27+ en milieu liquide, nous avons ensemencé trois tubes de bouillon avec chacune des souches S 3/58 et B 7/58, toutes deux 27-. Le premier tube a servi de témoin ; le second a été additionné du 1/5 de son volume de filtrat d'une culture de S 4/59 (27+) ; le troisième du même filtrat additionné d'un sérum anti S. essen (4, 12). ISEKI et SAKAI (1954) avaient

signalé, en effet, une action favorisante des sérums anti 0 1,19 sur les changements de l'antigène 0 du sous-groupe E_3 des Salmonella par le bactériophage ; nous avons voulu vérifier si une action analogue ne se produirait pas dans la conversion des cultures 27- en 27+.

Après une incubation de huit heures à 37° en milieu non agité, les cultures furent isolées sur gélose. Le lendemain, l'agglutination dans le sérum 27 fut recherchée sur lame. La cultures témoins étaient restées inagglutinables par le sérum 27. Celles qui avaient été mises en contact avec le filtrat étaient au contraire agglutinées par ce sérum. Les agglutinations de colonies isolées montrèrent que toutes celles de la culture B 7/58 qui furent éprouvées étaient devenues 27 +, ainsi que dix colonies sur quinze examinées de la culture S 3/58.

Des proportions analogues furent observées pour les isolements des cultures qui avaient été additionnées de sérum anti 4, 12 en même temps que du filtrat de la culture 27+. L'addition du sérum anti-O paraît donc superflue.

Dans d'autres expériences du même type effectuées avec les souches B 15/60 et S 3/58, les résultats ont été identiques.

Il semblait donc bien , que sous l'influence du bactériophage libéré par la culture de S 4/59 (27+), les colonies secondaires des cultures 27- de S. bredeney et de S. schwarzengrund pouvaient acquérir le facteur 27.

Pour rechercher si ces bactéries étaient devenues en même temps lysogènes et dans l'affirmative, si le phage, qu'elles avaient acquis la propriété d'élaborer était capable d'opérer à son tour la conversion 27 ⟶ 27+, les souches S 3/58 et B 7/58 devenues 27+ furent ensemencées en bouillon et celui-ci fut filtré après une incubation de huit heures à 37°. L'action de ces filtrats fût éprouvée parallèlement à celle du filtrat originel de la souche S 4/59, sur les cultures originelles 27- de ces souches et sur les cultures rendues 27+. Ces dernières se montrèrent insensibles aux phages contenus dans les filtrats, tandis que les souches 27- subissaient une action lytique comparable à celle qui s'était manifestée sous l'effet du premier filtrat. Les colonies secondaires qui avaient pris naissance étaient devenues 27+.

Ainsi, avec ces souches, une culture 27- peut devenir lysogène sous l'influence d'un phage tempéré issu d'une culture 27+ et en même temps elle peut acquérir le facteur 27. Le phage qu'elle est devenue capable d'élaborer peut à son tour faire apparaître le facteur 27 dans les cultures secondaires de la souche homologue originelle 27-.

Nous avons pu constater que ces caractères acquis se maintenaient après de nombreux repiquages.

Des résultats analogues furent obtenus enfaisant agir le filtrat de la souche S 4/59 sur deux autres souches de S. bredeney (B 13/58 et B 21/59) et sur deux souches de S. schwarzengrund (1/57 et 3/57). Il convient cependant de faire remarquer que les souches de S. bredeney se sont toujours montrées plus sensibles à l'action des filtrats que les souches de S. schwarzengrund et que la conversion a été plus facile à obtenir avec le premier sérotype qu'avec le second.

Cette différence d'aptitude à subir la conversion se retrouve avec les filtrats des cultures 27- ayant acquis secondairement la propriété lysogène et l'agglutinabilité par le sérum 27. Si, comme nous l'avons dit précédemment, le phage libéré par la culture S 3/58 rendue 27+ est capable de provoquer la conversion de la souche originelle 27-, il a la même propriété quand on le fait agir sur la souche B 15/60. Au contraire, le filtrat de la culture B 15/60 rendue 27+ agit sur la souche B 15/60, mais non sur la souche S 3/58. Nous y reviendrons p. 27 sur ces variations de sensibilité des souches convertibles.

Etudes immulogiques confirmant l'acquisition du facteur 27

a - Préparation d'anti-sérums 27 à partir de cultures 27- converties en 27+.

L'acquisition du facteur 27 par des cultures 27- de S. bredeney, sous l'influence des bactériophages élaborés par des cultures 27+, a été confirmée au moyen d'anti-sérums. Ceux-ci ont été préparés en injectant à des lapins la culture originelle de S. bredeney 15/60 et la culture 27+, chauffées deux heures à 100° pour détruire les antigènes H.

Quant on sature le premier sérum (obtenu par l'injection à un lapin de la souche originelle 27-) par S. reading (4, 12:eh:1, 5), S. abortus equi (4. 12 : - :enx), S. paratyphi B (4, 5, 12:b:1, 2), qui sont toutes dépourvues du facteur 27, il ne reste plus d'agglutinines O. Mais quand on sature, par la souche homologue originelle 27-, le sérum obtenu en injectant à des lapins la souche B 15/60 rendue 27+, des anticorps agglutinant celles-ci subsistent. Il s'agit d'agglutinines 27 : les souches S. bredeney 27+ et S. schwarzengrund 27+ de notre collection sont agglutinées par ce sérum, de même que

les souches 27+ de la collection du Centre International des Salmonella : S. abortus bovis, S. schleissheim, S. tinda, S. dalat, S. entebbe, S.schwarzengrund et S. bredeney. Au contraire les autres souches du groupe B ne sont pas agglutinées : S. budapest, S. abortus equi, S. wien, S. reading, S. paratyphi B, ainsi que les souches 27- de S. bredeney et de S. schwarzengrund. La conversion des cultures 27- en cultures 27+ permet par conséquent de préparer facilement un anti-sérum 27, en utilisant S. bredeney. Avec S. schwarzengrund , nous verrons plus loin que le problème est un peu plus complexe car il apparaît en même temps que le facteur 27 un autre facteur O sérologiquement distinct de celui-ci.

b - Méthode de l'immunofluorescence.

La méthode de l'immunofluorescence indirecte de Coons nous a permis de confirmer également la réalité de l'acquisition du facteur 27 et de la suivre dans le temps.

Les bactéries traitées par les filtrats actifs furent déposées sur des lames, fixées à l'alcool et mises en contact pendant trente minutes avec le sérum 27 préparé suivant la méthode classique (dilution terminale à 1/10). Après un lavage prolongé à l'eau physiologique froide et tamponnée à pH 7, un sérum de mouton antiglobulines de lapin, marqué à l'isothiocyanate de fluorescéine, fut laissé sur la préparation pendant trente minutes, en chambre froide ; l'examen fut pratiqué en lumière U.V. sur les lames montées à la glycérine tamponnée. Une belle fluorescence fut observée avec les bactéries possédant dès l' isolement le facteur 27 ou l'ayant acquis sous l'influence d'un filtrat de S 4/59, tandis que les bactéries 27- demeuraient invisibles en lumière ultraviolette. Cette méthode qui a l'avantage de mettre en évidence la présence d'un antigène directement au niveau des bactéries a permis de suivre l'apparition du facteur 27 en fonction du temps de contact des bactéries avec le phage convertisseur : nous avons fait une suspension d'une culture en phase exponentielle de B 15/60 (27-) dans 20 ml de filtrat de S 4/59 (27+). Immédiatement après le mélange , et ensuite toutes les deux minutes, nous avons prélevé 1 ml de la suspension et l'avons filtrée sous vide sur membrane "millipore". Afin de débarrasser les filtres des traces de bouillon, nous les avons rincés à l' eau physiologique. Cette technique a l'avantage, sur la centrifugation, de soustraire en quelques secondes les bactéries à l'action du filtrat. Les bactéries déposées sur la membrane furent étalées sur une lame, puis soumises successivement à l'action du sérum 27 et du sérum fluorescent antiglobuline de lapin. Nous avons

ainsi constaté qu'elles deviennent fluorescentes dès la dixième minute de contact et qu'au bout de douze minutes, la fluorescence a atteint son maximum. Toutes les bactéries deviennent fluorescentes. L'apparition du facteur 27 à leur surface est donc très précoce.

Preuve de l'intervention d'un phage

Ces changements antigéniques sont directement liés à l'action d'un phage.

Le facteur actif n'est pas dialysable, il résiste à l'action du chloroforme et au chauffage à 80° pendant trente minutes.

De ce fait, on peut obtenir un produit actif en stérilisant les cultures par le chloroforme ou par le chauffage à 60° suivis d'une centrifugation.

Il résiste à l'action de 2 volumes de méthanol ajouté à froid.

Des propriétés semblables avaient été trouvées par les auteurs japonais pour les phages de conversion qu'ils ont isolés des Salmonella du groupe E.

Il est peu probable que les filtrats de cultures jeunes de la souche S 4/59, préparés dans les conditions indiquées, contiennent de l'ADN libre susceptible de donner lieu à une transformation. Pour éliminer néanmoins cette possibilité, nous avons ajouté au filtrat actif de la souche S 4/59, de désoxyribonucléase en présence d'oxalate de Mg à 10^{-2}M. Dans ce mélange laissé une heure à la température du laboratoire, nous avons ensuite introduit des cultures 27- (S 3/58 et B 15/60). L'apparition du facteur 27 se produisit dans les mêmes conditions que dans les tubes témoins contenant le filtrat non traité par la désoxyribonucléase ou le filtrat additionné seulement d'oxalate de Mg.

Des lapins ont été immunisés au moyen du filtrat actif de la souche S 4/59. Le sérum obtenu inhibe, jusqu'à la dilution de 1/4.000, la formation de plages sur S. haffa sensible au phage contenu dans les filtrats. Quand ce sérum est ajouté au filtrat de la souche S 4/59 à la dilution de 1/40, il inhibe totalement son pouvoir de convertir les cultures 27- en cultures 27+, aussi bien pour S 3/58 que pour B 15/60.

En résumé, les phénomènes identiques à ceux qui ont été décrits sous le nom de conversion peuvent être observés pour certains sérotypes du groupe B du schéma de Kauffmann-White

tels certains sérotypes du groupe B du schéma de Kauffmann-White tels que S. bredeney et S. schwarzengrund. Ces sérotypes possèdent normalement le facteur somatique 27 et sont lysogènes ; mais certaine souches, dès leur isolement de l'organisme humain, sont dépourvues du facteur 27. En traitant ces souches 27- par le filtrat de certaines souches 27+, filtrat qui contient le phage, on leur fait acquérir le facteur 27 et en même temps le caractère lysogène. De plus, le phage qu'elles sont devenues capables de produire peut à son tour conférer ces deux caractères à d'autres souches 27- .

Pour des raisons de commodité nous appellerons ce phage convertisseur "phage 27".

Il ne peut s'agir d'une sélection sous l'influence du phage de mutants réverses 27+ dans une population en grande majorité 27- parce que :

a - Nous n'avons jamais trouvé de colonies 27+ apparaissant spontanément dans les cultures de souches 27-, ni par immunofluorescence de bactéries 27+ dans une population de bactéries sauvages 27- ;

b - l'immunofluorescence montre que le caractère 27+ est rapidement acquis par toutes les bactéries de la population qui deviennent fluorescentes en présence de l'immum-sérum anti-27.

Ces premières observations se rapprochent davantage, au point de vue sérologique, des travaux sur le facteur 1 des sous-groupes A B D et sur l'antigène 34 du sous-groupe E, que de ceux relatifs au facteur 15. Elles montrent l'addition, sous l'action d'un d'un phage, d'un facteur somatique. Au contraire, quand on fait agir le phage epsilon 15 sur les souches du groupe E_1 (3, 10), on amène la substitution du facteur 15 au facteur 10.

B - ACTION DU PHAGE 27 SUR DES SEROTYPES DE SALMONELLA DES GROUPES A B D NE POSSEDANT JAMAIS A L'ISOLEMENT LE FACTEUR 27 :

Contrairement au phage iota convertisseur pour le facteur 1 des sous-groupes A B D , dont l'action est limitée aux Salmonella de ces sous-groupes, le phage 27 peut convertir des sérotypes de Salmonella chez lesquels il n'a jamais été rencontré dans la nature en leur faisant acquérir le facteur 27.

Matériel et Méthodes

Le phage dont nous nous sommes servi fut celui isolé d'un filtrat de culture en bouillon d'une S. schwarzengrund 27+ de notre collection (S 4/59). Diverses préparations furent obtenues par passage de ce phage sur les souches sensibles mentionnées ci-dessous : à des cultures en bouillon en phase exponentielle, et titrant environ 5 x 10^7 bactéries par millilitre, on incorpore un carré de gélose prélevé au niveau où une goutte de phage avait été déposée la veille sur une boîte de Pétri ensemencée par la souche sensible y provoquant une lyse voilée. Après quatre heures d'incubation, à 37°, ces cultures sont additionnées, pour les stériliser, de quelques gouttes de chloroforme , puis centrifugées. La stérilité est contrôlée et le titrage effectué sur boîtes de Petri de gélose par la méthode de la double couche. L'aspect des plages varie considérablement selon les souches utilisées pour titrage. Minuscules et très difficiles à compter sur S. schwarzengrund et S. bredeney, elles ont 2 à 3 mm de diamètre sur S. abortus equi et S. haffa (tableau I p. 28 b).

La sensibilité des souches est recherchée en déposant 1 goutte de cette préparation de phage sur une culture ensemencée en nappe sur gélose ordinaire en boîte de Petri. La lyse des souches sensibles est en général suivie d'une culture secondaire. L'agglutinabilité de celle-ci par le sérum 27 et l'eau salée hypertonique est recherchée par la méthode sur lames. Si la culture secondaire est S et agglutinable par le sérum 27, elle est isolée sur gélose ordinaire. Une colonie 27+ est repiquée, isolée de nouveau. Après un nouveau contrôle de l'agglutination par le sérum 27, une colonie est repiquée sur 3 tubes de bouillon gélosé : l'un pour la collection, l'autre pour préparer une suspension O destinée aux titrages, le dernier pour préparer une suspension chauffée deux heures à 100° destinée à l'immunisation du lapin.

Nos investigations sur la possibilité d'acquérir le facteur 27 sous l'influence du phage 27 ont d'abord porté sur des souches du groupe B du schéma de Kauffmann-White (1961) : S. haffa, S. reading, S. abortus equi, S. typhi murium, S. paratyphi B, puis sur des souches des groupes A (S. paratyphi A) et D (S. typhi).

La souche de S. paratyphi B (B 60-1917) a pour formule 1, 4, 5, 12 : b:1, 2 (lysotype 3aI). Les S. typhi murium nous ont été adressées par le Dr. STOCKER : ce sont des souches sensibles au phage PLT_{22} et qui lui servent à préparer des suspensions de titre élevé de ce phage ; deux sont mobiles : LT_2 qui possèdent les antigènes 4, 5, 12 :i:1, 2 et SL 375 qui a les antigènes 4, 12 :i:1, 2

(cette souche a servi au travail de STOCKER et coll.) (1960) et la troisième immobile : SL 501 qui a les antigènes 0:4, 12. Toutes trois sont agglutinées par le sérum 12_2 .

Les autres souches proviennent du Centre International des Salmonella de Copenhague (Pr. KAUFFMANN) : S. haffa (1, 4, 5, 12:z_{10}:1. 2) S. reading (4, 5, 12:eh:1, 5), S. abortus equi (4, 12: enx) S. paratyphi A 1015 (1, 2, 12:a), S. paratyphi A var. durazzo (2, 12:a), S. typhi T_2 (souche de Almon et Stowall (1939) dépourvue d'antigène 12_2) (9, 12:d).

D'autres souches utilisées épisodiquement proviennent de notre collection.

Le sérum anti 27 utilisé dans la agglutinations sur lames est préparé en saturant un sérum anti-S. bredeney 27+ (B 15/60) par la souche homologue 27-.

Résultats

1 - Action du phage 27 sur divers sérotypes de Salmonella.

Dans le tableau I sont rapportés les résultats des titrages croisés des diverses préparations de phage 27 et dans le tableau II les résultats obtenus en disposant 1 goutte des phages non dilués sur les diverses souches.

Lors des réisolements des cultures secondaires montrant une agglutination dans le sérum 27 , nous avons fréquemment obtenu des colonies agglutinables par le sérum 27 et des colonies non agglutinables par ce sérum. Les cultures issues des colonies 27+ sont insensibles à l'action du phage 27, les colonies 27- se comportant au contraire comme les cultures initiales.

Les plages sur S. haffa sont très grandes et faciles à dénombrer.

S. abortus equi est sensible à toutes les préparations de phage 27 et les plages formées sur cette souche sont, comme celle sur S. haffa , faciles à dénombrer.

S. reading est au contraire bien plus résistant. La culture 27+ à partir de laquelle nous avons préparé un sérum provient de l'isolement de la culture secondaire, après action du phage passé sur S. haffa. Les numérations de phage sont impos-

sibles à pratiquer sur S. reading car les plages n'y sont pas visibles. Les préparations de phage 27 faites sur ces deux souches se sont toujours, malgré des essais répétés, montrées de titre faible et peu actives dans les tentatives de conversion.

Les phages préparés sur S. typhi murium SL 375 et LT_2 se comportent de manière peu différente. Toutefois les numérations de phage, faciles à réaliser sur SL 375, sont impossibles sur LT_2. D'autre part il est plus difficile de faire apparaitre le facteur 27 chez LT_2 que chez SL 501 (tableau II) La souche SL 501 ne peut être convertie que par le phage préparé sur S. paratyphi B. Alors que des phages de titre élevé sont facilement obtenus sur les deux autres souches, nous n'avons jamais pu préparer de phage de haut titre sur SL 501. Les titrages sont impossibles sur cette souche.

Des essais préalables avaient montré que certaines souches de S. paratyphi B étaient sensibles au phage 27, en particulier la souche B 60-1917 qui, originellement, possédait les facteurs 0 1,4,5,12. Cette souche se dissocie en colonies 1+ et 1-. Par réisolements successifs il est possible d'obtenir des cultures possédant ce facteur 1 ou en étant démunies. Leur comportement est identique vis-à-vis du phage 27 et les titres des phages obtenus sur l'une ou l'autre de ces variantes sont du même ordre.

Sur 12 souches de S. paratyphi A, 8 se montrèrent sensibles au phage 27 préparé sur S. haffa en particulier S. paratyphi A 1015 et S. paratyphi A ver durazzo provenant du Centre International des Salmonella. Un seul passage du phage sur S. paratyphi A var durazzo permet d'avoir une préparation hautement active tant du point de vue du titre que de l'activité convertissante sur ces souches et sur celles appartenant à d'autres sérotypes.

L'action du phage 27 fut aussi recherchée sur trois souches de S. typhi : T_2, 0 901 et T 35/52 (ces deux dernières étant des variétés W immobiles) sont sensibles au phage 27 provenant de S. typhi murium, S. schwarzengrund, S. bredeney, S. haffa S. paratyphi A 1015 rendues 27 +. Les agglutinations dans le sérum 27 des cultures secondaires de 0 901 et T 35/32 ayant donné un résultat douteux tandis que celles de T_2 étaient agglutinées de manière nette, c'est avec cette dernière souche de S. typhi que le travail fut poursuivi. Les isolements des cultures secondaires, après action du phage 27 provenant de S. haffa donnent sur gélose ordinaire deux types de colonies en nombre approximativement égal : d'une part des colonies de dimensions normales dont les essais d'agglu-

TABLEAU I. — **Titrage des diverses préparations de bactériophage.**

CULTURES	PHAGE 27 PRÉPARÉ SUR :						PHAGE 27 PRÉPARÉ SUR :							
	S 4/59	S 3/58	B 15/60	*S. haifa*	*S. a.e.*	*S. reading*	*S. t.m.* SL 375	*S. t.m.* LT$_2$	*S. t.m.* SL 501	*S. para* B (60-1917 1 +)	*S. para* B (60-1917 1 —)	*S. para* A 1015	*S. para* A *durazzo*	*S. typhi* T$_2$
S. haifa	10^3	—	—	8.10^3	—	—	2.10^3	2.10^3	—	10^4	2.10^4	$1,9.10^3$	5.10^3	—
S. a.e.	10^9	4.10^8	5.10^8	2.10^8	$1,8.10^8$	$1,3.10^4$	$2,8.10^9$	3.10^8	10^8	$2,7.10^9$	$3,4.10^9$	2.10^8	2.10^{10}	10^4
S. t.m. SL 375	$1,8.10^9$	$1,4.10^4$	3.10^4	10^3	$3,6.10^4$	7.10^3	8.10^9	3.10^9	5.10^8	6.10^9	8.10^9	$3,5.10^7$	$1,3.10^9$	2.10^4
S. para B 60-1917 1 +	$1,6.10^7$	5.10^5	5.10^5	10^6	2.10^5	7.10^3	$2,5.10^6$	4.10^6	—	4.10^9	10^{10}	6.10^6	8.10^6	—
S. para A 1015	2.10^5	—	—	—	—	—	5.10^5	10^6	—	5.10^5	$2,5.10^5$	$2,7.10^6$	4.10^{10}	—
S. para A *durazzo*	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$1,8.10^{10}$	—

S 4/59 = *S. schwarzengrund* S 4 59 (souche lysogène originelle 27 +) ; S 3/58 = *S. schwarzengrund* S 3/58 27 — ; B 15/60 = *S. bredeney* B 15/60 27 — ; *S. a.e.* = *S. abortus equi* ; *S. t.m.* = *S. typhi murium*. Les titrages sont impraticables en raison des dimensions minuscules des plages ou du fait que, si elles existent, elles sont invisibles même à la loupe, sur *S. schwarzengrund* S 3/58, *S. bredeney* B 15/60, *S. reading*, *S. typhi murium* LT$_2$ et SL 501, *S. typhi* T$_2$. Il en est de même pour les résultats indiqués par — dans le tableau. Dans tous ces cas, nous avons effectué à deux reprises les essais de titrages avec les préparations de phages non dilués et dilués de 10 en 10 jusqu'à 10^{-8}.

Tableau II. — **Action convertissante des diverses préparations de phage.**

Cultures	Phage 27 préparé sur :						Phage 27 préparé sur :							
	S 4/59	S 3/58	B 15/60	*S. haïfa*	*S. a.e.*	*S. reading*	*S. t.m.* SL 375	*S. t.m.* LT_2	*S. t.m.* SL 501	*S. para* B 60-1917 1 +	*S. para* B 60-1917 1 —	*S. para* A 1015	*S. para* A *durazzo*	*S. typhi* T_2
S 3/58	LV +	LV ++	—	LV +	—	—	LV +	—	—	LV ++	LV ++	LV ++	LV ++	—
B 15/60	LV +	LV ++	LV +	LV ++	—	LV ±	LV ++	LV +	—	LV ++	LV ++	LV ++	LV ++	—
S. haïfa	LV +	—	—	LV ++	—	—	LV ++	LV +	—	LV ++	LV ++	LV ++	LV ++	—
S. a.e.	LV ++	LV +	LV +	LV +	LV —	LV —	LV ±	LV ++	LV —	LV ++	LV ++	LV ++	LV ++	LV —
S. reading	LV ±	—	—	LV +	—	—	—	—	—	LV ±	LV ±	—	LV —	—
S. t.m. SL 375	LV ++	LV ±	LV +	LV ++	LV ±	LV —	LV ++	LV ++	LV —	LV ++	LV ++	LV ±	LV ++	• —
S. t.m. LT_2	LV ±	• —	• —	LV —	• —	LV —	LV ±	LV ±	—	LV +	LV +	LV +	LV ±	—
S. t.m. SL 501	LV —	—	—	LV —	—	LV —	LV —	LV —	—	LV ++	LV ++	LV —	LV —	—
S. para B 60-1917 1 +	LV ++	LV +	LV +	LV ++	• —	• —	LV +	LV +	—	LV ++	LV ++	LV ++	LV ++	—
S. para B 60-1917 1 —	LV —	LV +	LV +	LV ++	• —	• —	LV ±	LV ±	—	LV ++	LV ++	LV ++	LV ++	—
S. para A 1015	—	—	—	LV +	—	—	LV —	LV —	—	LV ±	LV ±	LV +	LV ++	—
S. para A *durazzo*	—	—	—	LV ±	—	—	—	—	—	LV ±	LV ±	LV ±	LV ++	—
S. typhi T_2	LV —	LV —	LV —	LV +	—	LV —	LV ±	LV ±	—	LV +	LV +	LV ±	LV ±	—

LV = lyse voilée ou lyse avec colonies secondaires ; • = présence de quelques plages ; — = pas de lyse visible. L'agglutinabilité dans le sérum 27 des cultures secondaires est indiquée par : ++ = agglutination forte, + = agglutination nette mais moins intense, ± = agglutination partielle, la suspension restant trouble entre les agglutinats.

tination dans le sérum 27 ne donnèrent qu'un résultat positif sur 20 colonies examinées, et d'autre part des petites colonies de 1 mm de diamètre environ après vingt-quatre heures Huit d'entre elles furent repiquées sur tubes de gélose ordinaire. Après dix huit heures d'étuve à 37°, une culture maigre était apparue en surface, suffisante néanmoins pour pratiquer les agglutinations. Sur les 8 cultures, 5 furent agglutinables par le sérum 27. Réisolées sur gélose ordinaire en boîte de Petri, ces dernières donnèrent au bout de vingt quatre heures, un grand nombre de petites colonies et de très rares colonies de dimensions normales. Repiquées sur milieu lactose-glucose-SH_2, pour contrôler les caractères biochimiques essentiels, les colonies des deux types montrèrent des réactions fermentaires identiques à celles de la souche de départ. D'autre part, sur ce milieu, les repiquages des petites colonies donnèrent des cultures d'abondance comparable à celle des grosses colonies. Toutes les cultures issues des petites colonies étaient S et agglutinables par les sérums 9, 27, d, inagglutinables par les sérums 1 et 12. Sur 15 cultures issues du réisolement d'une colonie 27+ de dimensions normales, 6 furent agglutinables par le sérum 27. Ce n'est qu'avec S. typhi que fût observée, après action du phage, une telle dissociation en colonies de dimensions normales et en petites colonies.

Un lapin fût immunisé au moyen d'une culture provenant d'une petite colonie 27+.

Les cultures converties, qu'elles proviennent de petites colonies ou de colonies normales de S. typhi sont résistantes au phage 27. Il nous fût impossible d'obtenir sur T_2, de même que sur S. abortus equi et S. reading, des suspensions de phage aussi riches que sur S. haffa ou S. paratyphi B, même après irradiation par les U.V. Nous n'avons pas pu obtenir de conversion avec ce phage de faible titre.

L'action du phage 27 préparé sur S. haffa fût recherchée sur d'autres souches de S. typhi : 3 en forme W, 1 en forme VW et 2 en forme V. Toutes sont sensibles à ce phage, qui y provoque une lyse voilée. Mais seule la culture secondaire d'une souche W se montra directement agglutinable par le sérum 27.

Salmonella d'autres groupes.

Six préparations différentes de phage 27 (phage originel provenant de S. schwarzengrund 27+ lysogène S 4/59, et phage provenant des souches converties S. haffa, S. typhi

murium, SL 375, S. paratyphi A 1015 et var. durazzo, S. paratyphi B 60-1917 variante [1-] se sont montrées sans action sur les souches suivantes provenant du Centre International de Salmonella : S. thompson et S. paratyphi C east africa (0 6, 7), S. newport et S. bovis morbificans (0 6, 8) S. kentucky (0 8, 20), S. virginia (0 8), S. haarlem, S. ouakam, S. strasbourg (0 (9) 46), S. anatum (0 3, 10) S. newington (0 3, 15), S. illinois (0 (3) (15) 34), S. senftenberg (0 1, 3, 19), S. rubislaw et S. aberdeen (0, 11), S. poona et S. clifton (0 13, 22) S. cubana et S. worthington (0 13, 23) S. carrau (0 6, 14, 24), S. sundswall (0 6, 14, 25), S. brazil et S. hvittingfoss (0 16), S. kirkee (0 17), S. cerro (0 18) S. minnesota (0 21), S. tel aviv et S. pomona (0 28), S. urbana (0 30), S. adelaïde (0 35), S. inverness (0 38), S. champaign (0 39), S. springs (0 40), S. waycross (0 41), S. weslaco (0 42), S. milwaukee (0 43), S. niarembe (0 44), S. deversoir (0 45), S. bergen (0 47), S. dahlem (0 48), S. greenside (0 50), S. treforest et S. antsalova (0 51), S. utrecht (0 52), S. humber (0 53), S. uccle (0 54), S. tranaroa (0 55), S. artis (0 56), S. locarno (0 57), S. basel (0 58) S. betioky (0 59).

Nous retrouverons donc avec le phage 27 la spécificité d'action limitée aux sérotypes des groupes ABD qui avait été observée avec le page iota. Ces trois groupes sont, par cette propriété, proches les unes des autres.

En résumé, le phage 27, provenant de Salmonella 27+ sauvages qui appartiennent toutes à des sérotypes du groupe B du tableau Kauffmann, peut convertir, non seulement des mutants 27- de ces sérotypes habituellement 27+, mais encore des souches appartenant à des sérotypes qui ne possèdent jamais ce facteur à l'état sauvage. Ces souches convertibles ne sont pas obligatoirement du groupe B comme S. typhi murium et S. paratyphi B, mais peuvent appartenir aux groupes A et D, comme S. paratyphi A et S. typhi. L'action du phage 27 est limitée aux souches des groupes ABD.

2 - Etude des agglutinines produites par les lapins immunisés par les souches converties 27+ :

Des sérums ont été préparés avec les souches suivantes rendues 27+ par conversion bactériophagique :

S. bredeney B 15/60	S. paratyphi B 60-1917
S. schwarzengrund S 3/58	S. paratyphi A 1015

S. abortus equi	S. paratyphi A durazzo
S. reading	S. typhi T_2
S. haffa	S. typhi murium SL 375

L'immunisation a été faite par voie intraveineuse : 4 injections espacées de quatre jours, de 1, 2, 4 milliards d'une suspension chauffée deux heures à 100°. Les animaux ont été saignés à blanc dix jours après la dernière injection.

Les sérums dilués au 1/10 ont été saturés par la Salmonella 27- correspondant à chaque sérum, et titrés vis-à-vis des suspensions O des Samonella ci-dessous, originelles 27- et converties 27+.

Avec les sérums S. bredeney B 15/60 27+, S. abortus equi, S. paratyphi A 1015, S. paratyphi A var durazzo, S. typhi T_2, S. typhi murium SL 375, le problème est simple : la saturation par la souche homologue 27- enlève toutes les agglutinines pour les souches hétérologues 27-. Seules restent agglutinées les souches converties 27+, à des titres d'ailleurs variables (Tableau III).

Avec les sérums S. schwarzengrund S 3/58, S. reading, S. haffa S. paratyphi B 60-1917, la saturation par souche homologue 27- laisse des agglutinines O pour certaines souches hétérologues 27- : S. abortus equi, S. bredeney B 15/60 S. typhi murium SL 375 et, à des titres toujours moindres, S. haffa, alors que les autres suspensions 27- ne sont plus agglutinées. Toutes les agglutinines pour ces suspensions sont supprimées, dans tous les cas, par une saturation par S. abortus equi 27-, tandis que les suspensions 27+ restent agglutinées à des titres variant de 1/100 à 1/800 (tableau III).

Le phage 27 a donc provoqué chez les souches correspondant à ces sérums non seulement l'apparition du facteur 27, mais encore un changement dans l'antigène somatique originel, puisque les agglutinines autres que 27 ne sont pas totalement enlevées lors de la saturation par la souche homologue 27 -. Il est impossible de rattacher à un des facteurs O mentionnés dans le tableau de KAUFFMANN-WHITE, ce facteur O néoformé : 0 1 est à éliminer, car S. paratyphi A 13, A 1015 et S. paratyphi B 60-1917 ne sont plus agglutinées après cette première saturation. Il en est de même pour 0 5, car S. reading et S. paratyphi B 60-1917 ne sont plus agglutinées, et pour 0 4, car S. paratyphi B 60-1917 et S. reading ne sont plus agglutinées. Les résultats rapportés plus haut pourraient faire penser au facteur 12_2. Mais S. reading qui possède ce facteur 12_2, n'est pas agglutinée et

la saturation par S. abortus equi qui ne possède pas de 12_2 enlève les agglutinines correspondantes. D'autre part ce nouveau facteur existe chez S. paratyphi B 60-1917 converti qui, comme la souche originelle, est inagglutinable par le sérum 12_2. On est donc obligé de conclure que, concurremment au facteur 27, le phage 27 fait apparaître chez certaines Salmonella un facteur O secondaire, et que ce facteur O existe chez S. abortus equi originel (4,12) qui peut saturer les agglutinines correspondantes.

Les variabilités dans les titres d'agglutination pouvaient faire suspecter une hétérogénéité des facteurs 27 produits chez les diverses Salmonella utilisées dans ce travail. Cette hypothèse est confirmée par les saturations croisées de certains sérums 27. Les sérums 27 anti-S. bredeney B 15/60 et S. schwarzengrund S 3/58 saturés d'abord par les souches 27- suivant la méthode ci-dessus indiquée, puis par S. typhi T_2 27+ n'agglutinent plus les suspensions 27+ de S. reading, S. paratyphi A 1015 et durazzo tandis qu'ils agglutinent encore celles de S. haffa, S. abortus equi, S. schwarzengrund, S. bredeney, S. paratyphi B. et S. typhi murium à des taux varient de 1/200 à 1/1.000. Il semble en être de même avec le sérum anti- S. abortus equi. Mais les titres résiduels obtenus avec ces souches ne sont, dans ce dernier sérum, que de 1/50. La saturation secondaire du sérum 27 anti S. paratyphi A. 1015 par S. schwarzengrund 27+ enlève toutes les agglutinines pour les autres souches 27+ mais laisse des agglutinines de faible titre (1/50) pour la souche homologue de S. paratyphi A; la saturation secondaire du sérum 27 anti-S. typhi T_2 par S. schwarzengrund 27 + laisse toutes les agglutinines pour les autres souches 27+, sauf S. typhi T_2 27+ qui reste agglutinée à 1/400, alors que la culture 27- de la même souche, qui a servi à la première saturation, n'est évidemment plus agglutinée (tableau IV).

Les facteurs 27 apparaissant chez les souches converties sont donc hétérogènes : ceux de S. reading, de S. paratyphi A 1015 et durazzo, de S. typhi T_2 n'ont qu'une fraction commune avec ceux de S. bredeney et S. schwarzengrund et celui de S. typhi T_2 comprendrait en outre une fraction qui serait particulière à cette souche.

Sous l'influence du phage 27, des souches de sérotypes différents peuvent donc élaborer des facteurs 0 27 qui peuvent présenter des différences sérologiques plus ou moins grandes. Ces différences proviennent uniquement de la souche-hôte : ainsi les facteur 27 de S. paratyphi B 60-1917

TABLEAU III. — **Résultats des titrages des sérums préparés au moyen des souches converties 27 + et saturés par les souches 27 —.**

		SÉRUMS		
		anti *S. typhi* T_2 27 + saturé par T_2 27 —	anti *S. abortus equi* 27 + saturé par *S.a. equi* 27 —	anti *S. schwarzengrund* S 3/58 27 + saturé par S 3/58 27 —
S. typhi T_2	27 —	∧ 50	∧ 50	∧ 50
S. typhi o 901	27 —	∧∧∧ 50	∧∧∧ 50	50 ±
S. paratyphi A 1015	27 —	∧∧∧ 50	∧∧∧ 50	∧∧∧ 50
S. paratyphi A *durazzo*	27 —	∧∧∧ 50	∧∧∧ 50	∧∧∧ 50
S. paratyphi A 13	27 —	∧∧∧ 50	∧∧∧ 50	∧∧∧ 50
S. paratyphi B 60-1917	27 —	∧∧∧ 50	∧∧∧ 50	∧∧∧ 50
S. reading	27 —	∧∧∧ 50	∧∧∧ 50	∧∧ 50
S. schwarzengrund S 3/58	27 —	∧∧∧ 50	∧∧∧ 50	∧ 50
S. bredeney B 15/60	27 —	∧∧∧ 50	∧∧∧ 50	800
S. abortus equi	27 —	∧∧ 50	∧∧ 50	800
S. haïfa	27 —	∧∧ 50	∧∧ 50	200
S. typhi murium SL 375	27 —	∧ 50	∧ 50	800
S. typhi T_2	27 +	3.200	800	100-200 ±
S. paratyphi A 1015	27 +	400	400	50
S. paratyphi A *durazzo*	27 +	1.600	400	50
S. paratyphi B 60-1917	27 +	3.200	800	3.200
S. reading	27 +	400	100	400
S. schwarzengrund S 3/58	27 +	1.600	200	3.200
S. bredeney B 15/60	27 +	1.600	400	3.200
S. abortus equi	27 +	1.600	400	1.600
S. haïfa	27 +	3.200	800	3.200
S. typhi murium SL 375	27 +	3.200	800	3.200
				2e saturation par *S. abortus equi*
S. bredeney B 15/60	27 —			∧∧∧ 50
S. abortus equi	27 —			∧∧∧ 50
S. haïfa	27 —			∧∧ 50
S. typhi murium SL 375	27 —			∧ 50
S. typhi T_2	27 +			100
S. paratyphi A 1015	27 +			50
S. paratyphi durazzo	27 +			50
S. paratyphi B 60-1917	27 +			400
S. reading	27 +			100
S. schwarzengrund S 3/58	27 +			1.600
S. bredeney B 15/60	27 +			800
S. abortus equi	27 +			400
S. haïfa	27 +			400
S. typhi murium SL 375	27 +			400

TABLEAU IV. — **Résultats des titrages des sérums 27 (ayant déjà subi les saturations par les cultures 27 —) saturés à nouveau par les souches hétérologues 27 +.**

Cultures 27 +	SÉRUMS 27			
	S. schwarzengrund S 3/58 saturé par *S. typhi* T_2 27 +	*S. typhi* T_2 27 + saturé par *S. schwarzengrund* S 3/58 27 +	*S. paratyphi* A 1015	
			après 1re saturation par *S. paratyphi* A 1015 27 —	après nouvelle saturation par *S. schwarzengrund* S 3/58 27 +
S. haïfa	200	< 50	200	< 50
S. abortus equi	400	< 50	200	< 50
S. schwarzengrund S 3/58	1.600	< 50	100	< 50
S. bredeney B 15/60	800	< 50	50-100 ±	< 50
S. paratyphi B 60-1917	400	< 50	200	< 50
S. typhi murium SL 375	400	< 50	200	< 50
S. paratyphi A 1015	< 50	< 50	200-400 ±	< 50
S. paratyphi A *durazzo*	< 50	< 50	200	< 50
S. typhi T_2	< 50	400	400	< 50
S. reading	< 50	< 50	100	< 50

Les titres des sérums *S. schwarzengrund* S 3/58 et *S. typhi* T_2 après saturation par les cultures 27 — sont rapportés dans le tableau III.

se comportent toujours de manière semblable quant à leur agglutinabilité dans les divers sérums, que la souche ait été convertie par un phage 27 provenant de S. typhi murium, de S. schwarzengrund, de S. paratyphi A 1015 ou var durazzo.

Ne pouvant pas rapporter dans un tableau tous les titrages croisés effectués avec les dix sérums, nous citons comme exemples dans le tableau III le sérum anti-S. schwarzengrund 3/58 (qui se comporte de la même façon que les sérums anti-S. reading, S. haffa, S. paratyphi B 60-1917 1+ et 1- quand à la nécessité, après saturation par la souche homologue 27- d'être en plus saturé par S. abortus equi) et les sérums anti-S. typhi et S. abortus equi (qui se comportent de la même façon que les sérums anti-S. bredeney B 15/60, S. paratyphi A 1015, S. paratyphi A durazzo et S. typhi murium SL 375, la seule saturation par la souche homologue 27- suffisant pour ne laisser que les agglutinations 27).

3 - Interaction entre le facteur 0 27 et d'autres caractères :

a - Caractères fermentatifs :

Nous n'avons observé chez les souches converties aucune modification des caractères habituellement recherchés, par rapport aux souches originelles.

b - Facteurs antigéniques :

- Interaction entre 0 1 et 0 27-

Les facteurs O caractéristiques des groupes ABD (2, 4, 5, 9) ont toujours été retrouvés chez les souches converties.

Nous avons étudié de plus près les rapports entre 0 1 et 0 27 à la suite de la publication de KAUFFMANN et RHODE (1961) d'un phénomène "d'équilibre" entre 1 et 27. Ces auteurs ont trouvé que chez les souches sauvages de S. bredeney, les colonies 1- étaient 27+ et inversement les colonies 1+ étant 27-.

Nous n'avons pu confirmer cette observation en agglutinant de multiples colonies isolées de souches converties 27+ de S. paratyphi A, S. paratyphi B, S. bredeney, S. schwarzengrund, S. haffa, S. abortus equi, S. typhi, S. reading, S. typhi T_2, S. typhi murium SL 375 : nous n'avons trouvé aucune corrélation entre l'agglutinabilité dans le sérum 27 d'une part et les sérums 1 et 12_2 d'autre part.

Nous avons ensuite étudié l'action successive du phage PLT_{22} (provoquant la conversion du facteur 0:1) et du phage 27 sur S. typhi murium SL 501 (souche immobile originellement 4+, 1-, 5-) : cette culture est sensible au phage PLT_{22} qui y fait apparaître le facteur 1 . La culture 1- originelle et la culture convertie 1+ sont sensibles au phage 27 préparé sur S. paratyphi B 60-1917 (1+ ou 1-) qui y provoque une lyse voilée et l'apparition d'une agglutinabilité dans le sérum 27. Au réisolement de la culture secondaire de la souche 1-, 10 colonies sur 20 sont 27 agglutinables.

Au réisolement de la culture secondaire observée après action du phage 27 sur la culture rendue 1+ par le phage PLT_{22} sur 20 colonies , 16 sont 1 + 27-, une 1+ 27, une 1- 27- et 3 sont 1+ 27+. Une de ces dernières a été isolée à nouveau et sur 10 colonies de ce réisolement nous en avons trouvé deux qui sont 1- 27-, deux 1+ 27-, trois 1- 27+ et trois 1+ 27+. Nous n'avons pas noté, dans l'agglutination sur lame , de différence d'intensité des agglutinations 1 et 27 entre les souches possédant seulement un de ces facteurs ou possédant les deux simultanément.

L'expérience inverse fut aussi réalisée : le phage PLT_{22} est actif sur SL 501 rendue 27+. La culture secondaire est agglutinée par les sérums 1 et 27, et, à l'isolement de celle-ci on trouve des colonies 1+ 27+. Il est donc possible de conférer à la fois le facteur 1 et le facteur 27 à cette souche de S. typhi murium qui est par conséquent doublement convertible.

En résumé :

1 - Nous n'avons pas observé de phénomène d'équilibre entre les facteurs 1 et 27, chez S. paratyphi A, S. paratyphi B, S. bredeney, S. schwarzengrund et S. haffa converties par le phage 27.

Chez ces souches, l'action du phage est indépendante de la présence ou de l'absence chez la souche sauvage du facteur 1.

2 - A la souche de S. typhi murium SL 501 originellement 1-, 27-, il est possible de faire acquérir, soit le facteur 1, soit le facteur 27 par action des phages PLT_{22} ou 27. Les cultures 1+ ou 27+ sont respectivement sensibles aux phages 27 et PLT_{22} qui peuvent faire apparaître le facteur 27 chez les bactéries 1+ ou le facteur 1 chez les bactéries 27+.

3 - La présence, l'absence ou la plus ou moins grande agglutinabilité dans le sérum 12_2 n'influe pas sur la conversion par le phage 27.

4 - On retrouve , après conversion double, le même phénomène de ségrégation qu'après conversion simple.

4 - Variation de la sensibilité des cultures aux diverses préparations de phage 27.

Ces variations ressortent nettement de l'examen du tableau I, où sont rapportés les résultats des titrages effectués. Les résultats varient dans des proportions considérables pour une même préparation du phage titrée sur des souches différentes. Ainsi le phage préparé sur S. typhimurium SL 375 a un titre de 8.10^9 sur la souche homologue et seulement de 2.10^2 sur S. haffa. Autre exemple : seul le phage préparé sur S. paratyphi A var durazzo produit des plages faciles à numérer sur cette souche. Ces variabilités suivant la souche ayant servi à préparer le phage, se retrouvent dans l'action convertissante : le phage préparé sur S. schwarzengrund S 3/58 fait facilement apparaître le facteur 27 chez cette souche, S. bredeney B 15/60, S. abortus equi, S. paratyphi B 60-1917, alors qu'il est sans action sur S. reading et S. paratyphi A, bien que ces souches puissent être converties par le phage préparé sur S. haffa.

Ces diverses préparations de phage se comportent pourtant toutes comme étant sérologiquement identiques : leur action lytique, titrée pour les phages SL 375 et B 60-1917 sur cette dernière souche et pour tous les autres phages, sur S. abortus equi , est inhibée par un sérum anti-phage 27 préparé sur S. haffa.

L'aspect des plages est homogène sur les souches au moyen desquelles nous avons effectué les numérations, sauf sur B 60-1917. Sur cette dernière on constate un mélange de plages claires et de plages troubles. Cette différence d'aspect ne paraît pas importante : des préparations de phage de chaque type ont exactement la même action convertissante sur les souches sensibles et leur action est inhibée de la même manière par le sérum antiphage 27 préparé sur S. haffa. Le réisolement du phage préparé à partir d'une plage trouble redonne d'ailleurs sur B-60-1917 les deux types de plages.

Les phages éventuellement liés à la présence du facteur O1 ne paraissent pas intervenir dans les expériences que nous avons rapportées. Les filtrats de différentes cultures (non irradiées) que nous avons utilisées, qui possèdent le facteur O 1 (6 de S. bredeney, 2 de S. schwarzengrund, 2 de S. paratyphi A, 1 de S. paratyphi B et 1 de S. haffa) ne montrent pas d'action lytique sur la souche de S. typhi murium LT_2 (O 1 négative) très sensible au phage PLT_{22}. D'autre part nous n'avons pas observé sous l'action de préparations de phage 27 faites sur des Salmonella possédant le facteur 1 d'apparition de celui-ci chez les souches qui en sont démunies.

oOo

CHAPITRE III

CONVERSION AYANT TRAIT AU FACTEUR 0:1

A - ACQUISITION SIMULTANEE DES FACTEURS 0 1 et 0 37 PAR DES SALMONELLA DU GROUPE G SOUS L'EFFET DE LA LYSOGENISATION.

Les facteurs 0 des Salmonella du groupe G sont désignés dans le schéma de Kauffmann-White sous une forme résumée : sous-groupe G_1 : 13,22 et 1,13,22 ; sous-groupe G_2 : 13,23 et 1,13,23. Depuis 1944, KAUFFMANN a reconnu en outre deux autres facteurs 0 36 et 37. Diverses combinaisons antigéniques ont été rencontrées dont on trouvera des exemples dans la publication d'EDWARDS et coll. (1954) :

13,22,36

13,23,36

1,13,23,37

1,13,22,36,37

1,13,23,36,37

Nous avions remarqué que, parmi les souches de S. poona (qui ont toutes les facteurs 13,23,36) de notre collection, certaines réagissaient d'une manière classique, c'est-à-dire qu'elles étaient inagglutinables par les sérums 1 et 37 (leur formule 0 était donc : 13,23,36), tandis que d'autres étaient agglutinables à la fois par ces deux sérums : leur formule antigénitique 0 était donc : 1,13,23,36,37.

Nous avons recherché si la présence de ces facteurs 1 et 37 n'était pas liée à celle d'un phage tempéré et si la lysogénisation par ce phage ne s'accompagnait pas d'une apparition des facteurs 1 et 37 sur les bactéries.

Matériel et Méthode

La présence du facteur 1 a été recherchée au moyen d'un sérum anti-S. senftenberg (1,3,19) dilué au 1/10 et non saturé, le seul facteur éventuellement commun avec les souches du groupe G étant 0 1 ; celle du facteur 22 au moyen d'un sérum anti S. poona (13, 22, 36) saturé par S. grumpensis (13,23,36); celle du facteur 23 au moyen d'un sérum anti-S. grumpensis saturé par S. poona ; celle du facteur 36 au moyen d'un sérum anti S. grumpensis saturé par S. worthington (1,13,23,37); celle du sérum 37 au moyen d'un sérum anti S. worthington saturé par S. grumpensis et S. paratyphi A (1,2,12). Sauf indication spéciale, la méthode utilisée fut l'agglutination sur lame.

Nous avons tout d'abord controlé la formule antigénique des souches utilisées dans ce travail, qui furent les suivantes :

a - S. poona (6 souches), S. friedenau, S. ibadan, S. clifton, S. mim, S. bristol, S. bahati, S. mampong, S. roodeport, qui correspondent à la formule 13,22,36.

b - S. jukestown, S. atlanta, S. okatie, S. bracknell, S. demerara, S. natal, S. linton, S. agbeni, S. idikan, S. kintambo, S. fanti, S. ajiobo, S. durham, S. grumpensis, S. luanshya, S. tel-el-kebir, S. congo, qui correspondent à la formule 13,23,36.

c - S. rotterdam, S. tanger, S. poona (4 souches) qui correspondent à la formule 1,13,22,36,37 et S. willemstad à 1,13,22,37.

d - S. wichita, S. havana, S. tunis, S. worthington, S. cubana, S. worcester, S. mishmar-haemek, qui correspondent à la formule 1,13, 23,37.

e - S. mississipi, S. katesgrove, S. gojenberg, S. nachshonim, qui correspondant à la formule 1,13,23,36,37.

Les six souches de S. poona 1-37- comprennent la souche du Centre International des Salmonella, quatre autres isolées au Vietnam et au Venezuela. Trois des souches de S. poona 1+ 37+ nous avaient été envoyées du Venezuela et une du Portugal(souche 1/62). Les autres souches mentionnées provenaient toutes du centre International des Salmonella.

Un essai préalable de recherche de lysogénie fut fait en cultivant en bouillon à 37° pendant cinq heures les souches 37+, en les stérilisant par le chloroforme et en recueillant le surnageant de centrifugation. Après contrôle de la stérilité, celui-ci fut déposé en gouttes sur des boîte de bouillon gélosé ensemencé en nappe avec les souches 37-. Des images de lyse voilée furent observées avec certains filtrats tels que S. cubana, S. wichita, S. worthington, S. poona. Certaines cultures secondaires se montrèrent directement agglutinables par le sérum 37, en particulier S. poona et S. durham. L'agglutination la plus intense ayant été observée après action du surnageant de S. poona 37+ (souche 1/62) sur S. durham, nous avons préparé une provision de phage avec ce système : un fragment de gélose prélevé à l'endroit de la lyse voilée a été mis dans une culture agitée de S. durham, en phase exponentielle de croissance en bouillon titrant 5.10^7 bactéries par ml. Après incubation à 37°, les bactéries ont été tuées par le chloroforme et centrifugées. Le phage peut être facilement titré sur S. durham. Il donne, par méthode de la double couche, de grandes plages troubles auréolées de 3 à 4 mm de diamètre. L'opération a été répétée trois fois suivant la même méthode en ajoutant aux cultures de S. durham 37- un morceau de gélose prélevé au niveau d'une plage bien isolée. La provision de phage qui fut ainsi préparée, titrait $5x10^{10}$/ml. Au contraire, la souche originelle 37+ lysogène de S. poona 1/62 ne donne que des suspensions de phage de faible titre : 5.10^3 en cinq heures et 2.10^4 en six heures. L'irradiation par les rayons ultraviolets n'améliore pas le rendement. C'est la provision de phage de titre élevé que nous avons utilisée pour les essais de conversion et pour la préparation d'un sérum anti-phage. Ce bactériophage sera désigné sous le nom de "phage 1,37".

Résultats

Cette préparation s'est montrée active sur toutes les souches 37- du groupe G. En outre, elle a conféré d'emblée l'agglutinabilité par les sérums 1 et 37 aux souches suivantes :

1 - S. poona (les 6 souches), S. friedenau, S. clifton, S. bristol, S. bahati, S. roodeport ; ces souches qui avaient initialement la formule 13,22,36 ont acquis la formule 1,13,22,36,37.

2 - De même les souches de S. fanti, S. ajiobo, S. durham, S. grumpensis, S. tel-el-kebir, S. congo, S. jukestown, S. atlanta, S. okatie, S. bracknell, S. demerara, S. natal, S. linton, S. agbeni, S. idikan de formule 13,23,26 se sont transformées en 1,13,23,36,37.

Avec S. ibadan, S. mim, S. mampong et S. kintambo, nous n'avons observé qu'une agglutination faible avec les sérums 1 et 37. Des essais répétés ne nous ont pas permis de faire apparaître ces facteurs chez S. luanshya, bien que cette souche se soit montrée aussi sensible que les autres à l'action lytique du phage 1,37 qui détermine la formation d'une lyse voilée.

Dans tous les cas où nous avons constaté l'agglutinabilité avec le sérum 37, nous avons simultanément obtenu l'agglutinabilité avec le sérum 1 . Nous n'avons pas remarqué, en utilisant l'agglutination sur lames, une diminution de l'agglutinabilité par les sérums 22, 23 ou 36 chez les souches possédant ces facteurs avant contact avec le phage 1,37 .

Lorsqu'on isole les cultures secondaires, on trouve, à côté de colonies 1+ 37+, des colonies qui sont restées 1- 37-, les subcultures des colonies converties étaient résistantes au phage, contrairement à celles des colonies non converties.

Les souches suivantes rendues 1+ 37+ ont été lysogénisées et leurs surnageants contenaient un phase actif sur les cultures 37- : S. friedenau, S. clifton, S. durham, S. poona, S. tel-el-kebir, S. grumpensis. Au contraire, les surnageants des culture de S. congo et S. fanti ne paraissent pas contenir de phage actif dans les conditions de nos expériences.

Pour confirmer l'élaboration par les bactéries des facteurs 1 et 37 un lapin fut immunisé par voie intraveineuse au moyen d'une culture de S. durham convertie. Après saturation par S. durham originel, ce sérum n'agglutinait plus aucune des suspensions 0 des souches 37- ; il agglutinait à des titres allant du 1/200 à 1/1.600 toutes les suspensions 0 des souches 37+, mais aussi S. paratyphi A (1,2,12) à 1/400 et S. senftenberg (1,3,19) à 1/1.600. (Tableau V).

Une nouvelle saturation par S. paratyphi A a laissé des agglutinines pour S. senftenberg et pour S. durham 37+ à 1/800. Au contraire, si le sérum saturé par S. durham 37- était saturé par S. senftenberg, les agglutinines pour S. paratyphi A disparaissaient en même temps , alors que S. durham 37+ était encore agglutinée à 1/800.

STOCKER et coll. (1960) ont montré que les facteurs désignés par 1 dans le schéma de Kauffmann-White pour les groupes A, B, D d'une part, le groupe E d'autre part, n'avaient qu'une fraction commune. Aussi, avons-nous recherché l'agglutinabilité de S. durham avant et après conversion, dans les sérums anti-S. paratyphi A et S. senftenberg ayant subi des saturations croisées. Les S. durham ne sont plus agglutinées dans le

SERUMS	SUSPENSIONS			
	S. durham 37 -	S. durham 37 +	S. paratyphi A	S. senftenberg
S. durham 37+ saturé par S. durham 37-	< 50	1600	400	1600
S. durham 37+ saturé par S. durham 37- et par S.paratyphi A	< 50	800	< 50	800
S. durham 37+ saturé par S. durham 37- et par S.senftenberg	< 50	800	< 50	< 50
S. paratyphi A	< 50	400	3200	6400
S. paratyphi A saturé par S. senftenberg	< 50	< 50	800	< 50
S. senftenberg	< 50	400	400	3200
S. senftenberg saturé par S. paratyphi A	< 50	100	< 50	3200

TABLEAU V

sérum anti-S. paratyphi A saturé par S. senftenberg, alors qu'avant saturation S. durham 37+ est agglutinée par le même sérum à 1/400. Dans le sérum S. senftenberg saturé par S. paratyphi A, S. durham convertie est agglutinée à 1/100, alors que la souche originelle ne l'est pas (tableau V).

Délai d'apparition des facteurs 1 et 37

Une culture en phase exponentielle de S. durham 37- est additionnée de phage 1,37, dans la proportion de 10 particules de phage pour 1 bactérie. Des prélèvements sont faits de minute en minute ; ils sont étalés sur lame, séchés et immédiatement fixés à l'alcool. La technique indirecte d'immunofluorescence permet de constater, en utilisant tout d'abord le sérum 37, qu'à la huitième minute, une légère luminosité verte des bactéries commence à apparaitre, Celle-ci présente aussitôt après, à partir de la neuvième minute, son intensité maximale. Dans une autre expérience elle fût observée à la huitième minute. Toutes les bactéries sont fluorescentes. Il est cependant évident qu'un grand nombre d'entre elles subiront la lyse à la fin du cycle du phage et que seules subsisteront les bactéries lysogénisées.

La même méthode permet de démontrer que le facteur 1 apparaît en même temps que le facteur 37.

Interaction entre les phages 1,37 et PLT_{22}

Comme le phage 1,37 fait apparaître à la fois le facteur 1 et le facteur 37, nous avons recherché une interaction éventuelle avec le phage PLT_{22} qui peut convertir les souches des groupes A, B, D, en leur faisant acquérir le facteur 1. Les résultats furent négatifs : le phage 1,37 est sans action sur les souches de S. typhimurium (LT_2, SL 375, SL 501) sensibles au phage PLT_{22} et facilement convertibles par ce dernier. L'action du phage 1,37 sur S. durham 37- n'est pas inhibée par le sérum anti-phage PLT_{22}. Enfin le phage PLT_{22} est sans action sur les Salmonella 37- qui sont convertibles par le phage 1,37 .

Discussion :

Il n'existe pas de Salmonella du groupe G chez lesquelles on ait trouvé le facteur 37 non associé au facteur 1. Nous avons

pu vérifier ceci avec nos S. poona et toutes les souches types du groupe G provenant du Centre International des Salmonella. L'agglutinabilité de ces deux facteurs va toujours de pair, contrairement à ce qui se passe pour le facteur 36. KAUFFMANN (1961) décrit 4 formes possibles pour ces facteurs 0 du groupe G :

1++	36++	37++
1++	36^{+}_{-}	37++
1^{+}_{-}	36++	37^{+}_{-}
1^{+}_{-}	36^{+}_{-}	37^{+}_{-}

Les expériences que nous venons de rapporter montrent que ces deux facteurs sont liés et qu'ils apparaissent simultanément chez les Salmonella du groupe G démunies de ces facteurs et mises en présence du phage 1,37. La liaison entre de ces facteurs dénommés 1 et 37 dans le groupe G est à rapprocher de celle qui est connue dans le groupe E_4 entre les facteurs dénommés 1 et 19. Ceux-ci en effet, apparaissent toujours liés dans les souches de ce groupe : on n'y trouve pas de souches 19+ 1- plus que dans le groupe G des souches 37+ 1-. ISEKI et SAKAI (1953) avaient constaté leur disparition simultanée quand ils ont transformé par culture en présence de sérum 1,19 , les facteurs 1,3,19 en 3,15. On ne peut donc considérer les facteurs 1,19 et 37 comme des facteurs séparés, mais comme des complexes (1,19) et (1,37) dans lesquels la désignation 1 traduit la parenté antigénique, mais non l'identité, avec le facteur 1 des groupes A, B et D.

En résumé :

Un phage issu d'une Salmonella 37+ du groupe G peut faire élaborer simultanément le facteur 1 et 37 par des Salmonella de ce groupe qui en sont démunies. Ces deux facteurs sont liés car ils apparaissent simultanément lors de la conversion, et chez les souches sauvages on ne rencontre jamais le facteur 37 sans le facteur 1. Il s'agit donc d'un complexe (1,37) dont le facteur 1 est apparenté mais non identique à celui de S. paratyphi A. Les facteurs (1,37) apparaissent sur les bactéries 8 à 9 minutes après le contact avec le phage. Les culture 1+ 37+ sont lysogénisées : elles deviennent immunes au phage et dans 6 cas sur 8 la présence du phage fut démontrée dans leur surnageant.

B - ACQUISITION DU FACTEUR 1 CHEZ DES SALMONELLA DU GROUPE R SOUS L'EFFET DE LA LYSOGENISATION.

Le facteur 0 caractéristique du groupe R du schéma de Kauffmann-White est 0 40. L'espèce type en est S. riogrande décrite en 1950 par EDWARDS et coll. . En 1957, KAUFFMANN et DEOM décrivirent un autre sérotype, S. bulawayo auquel il assignèrent le facteur 0 49. Celui-ci fût en 1959 intégré par KAUFFMANN dans le groupe 0 40 en raison d'importantes agglutinations croisées observées dans les deux sérums 0 40 et 0 49 avec un nouveau sérotype de VAN OYE et coll. (1959), S. bukavu, de formule 1,40 :l z28:1,5. Ceci amena KAUFFMANN et PETERSEN (1962) à attribuer à ces trois sérotypes la formule 0 détaillée suivante:

S. riogrande 40_1, 40_2

S. bulawayo $1,40_1$, 40_3

S. bukawu $1,40_1,40_2$

le sérum 40_2 étant préparé en saturant le sérum anti S. riogrande par S. bulawayo et le sérum 40_3 en saturant le sérum S. bulawayo par S. riogrande et S. bukawu.

Nous avons recherché si le facteur 1 possédé par certaines souches du groupe R ne serait pas lui aussi lié à la présence d'un prophage et au cas où cette hypothèse serait vérifiée, s'il ne serait pas possible de faire acquérir le facteur 1 par conversion bactériophagique à des souches du groupe R qui en sont démunies.

Matériel et méthodes

Les sérums anti 40_2 et 40_3 ont été préparés suivant la méthode indiquée ci-dessus. La présence du facteur 1 a été recherchée au moyen de l'agglutination sur lames dans un sérum anti S. senftenberg (1,3, 19) dilué au 1/10. Ce sérum agglutine en tubes la suspension 0 de la souche homologue à 1/12.800 et celle de S. paratyphi A à 1/1.600. Les souches utilisées provenaient soit du Centre International des Salmonella de Copenhague, soit de notre collection. Dans ce dernier cas, elles portent un numéro.

Les agglutinations sur lame de ces souches nous ont donné les résultats suivants :

$1+ \quad 40_1+ \quad 40_3+$ = S. bulawayo

1- 40_1+ 40_2+ = S. riogrande, S. millesi Copenhague et 1/59 S. santhiaba 1/60, S. springs, S. karamoja Copenhague et 1/58 S. johannesburg 1/58, 2/58, 3/58, 4/58, 5/58, S. benguella, S. boksburg, S. degania, S. greiz, S. nowawes , S. omifisan, S. shikmonah.

1+ 40_1+ 40_2+ : S. bukawu, S. johannesburg Copenhague et 1/61, 6/58, 7/58, 8/58 ; S. fandran 1/61, 2/61, S. tilène, S. suarez 1/61 et 2/61, S. allandale, S. duval, S. driffield.

Nous avons recherché suivant la méthode antérieurement décrite si les surnageants de cultures 1+ ne contiendraient pas de bactériophages actifs sur les souches 1-.

Résultats :

Les surnageants des cultures de deux souches de S. johannesburg 1/61 et 7/58 provoquèrent une lyse voilée sur S. springs, S. karamoja, S. johannesburg 1/58, 2/58, 3/58, 5/58, tandis qu'ils furent sans action sur S. riogrande et S. santhiaba (tableau VI). La recherche de l'agglutination des cultures secondaires des souches sensibles dans le sérum 1, 3, 19 a montré que celles de S. springs et S. johannesburg 1/58, 3/58, 5/58 étaient devenues agglutinables par le sérum anti S. senftenberg : elles avaient donc acquis le facteur 0 1. Avec les autres cultures sensibles, le résultat de cet essai préalable fut négatif.

Les cultures rendues 1 agglutinables de S. johannesburg 3/58 et 5/58 (originellement 1-) sous l'influence du bactériophage provenant de 7/58 (1+) furent isolées. L'agglutination dans le sérum 1, 3, 19 d'une vingtaine de colonies de chaque boîte montra que les 1/10 environ de celles-ci étaient 1 agglutinables, le reste étant 1 inagglutinable comme la culture originelle. Les colonies 1+ furent à nouveau isolées et agglutinées : 5 sur 5 se montrèrent 1+. Une colonie 1+ de chaque souche fût ensemencée sur bouillon, et après 5 heures d'incubation à 37°, les cultures furent stérilisées par le chloroforme et centrifugées.

Après trois réisolements successifs en partant chaque fois de plages isolées, un stock de bactériophage fût préparé sur deux des souches convertibles de S. johannesburg. Les titrages sur la souche homologue donnèrent le résultat suivant :

TABLEAUX VI : Action de diverses préparations de bactériophages provenant de S. johannesburg 5/58 (1+) sur des souches 1- du groupe R.

	Filtrat de S. johannesburg 7/58 (1+)	Bactériophage préparé par passages sur S. johannesburg 5/58 (1-) Titre 4 x 10^9
Souches 1-		
S. riogrande Copenhague	-	LV 1+
S. millesi "		-
S. millési 1/59		-
S. santhiaba 1/61	-	LV 1+
S. springs Cophenhague	LV 1+	LV 1+
S. karamoja "	LV 1-	LV 1-
S. karamoja 1/58		LV 1-
S. johannesburg 1/58	LV 1+	LV 1+
" 2/58	LV 1-	LV 1+
" 3/58	LV 1+	LV 1+
" 4/58	LV 1-	LV 1+
" 5/58	LV 1+	LV 1+
S. benguella Copenhague		LV 1+
S. boksburg "		LV 1-
S. degania "		LV 1-
S. greiz "		LV 1+
S. nowawes "		LV 1+
S. omifisan "		LV 1-
S. shikmonah "		LV 1+

LV = lyse avec culture secondaire

1+ = culture secondaire directement agglutinable dans le sérum anti S. senftenberg .

1- = culture secondaire non agglutinable par ce sérum.

S. johannesburg 5/58 4×10^9

S. johannesburg 3/58 $2,5 \times 10^8$

Nous appellerons 1(40) le bactériophage qui est capable de faire acquérir le facteur 0 1 chez les Salmonella ayant le facteur 0 40, afin de le distinguer du bactériophage 1,37 qui fait apparaître simultanément ces deux facteurs chez des Salmonella du groupe G, et du bactériophage $1,42_2$, qui, comme nous le verrons ci-dessous, peut faire apparaître le facteur 1 chez des Salmonella possédant le facteur 0 42.

Cette préparation de bactériophage 1 (40) effectuée sur S. johannesburg 5/58 permet de convertir sans difficulté d'autres souches 1- du groupe R (tableau VI) : les cultures secondaires de S. riogrande, S. santhiaba, S. johannesburg 2/58 et 4/58, S. greiz, S. nowawes, S. shikmonah deviennent fortement agglutinables par le sérum anti S. senftenberg. Au contraire les tentatives de faire acquérir le facteur 1 à S. karamoja, S. boksburg, S. degania, S. omifisan ont toujours échoué, bien que les cultures fussent sensibles au bactériophage qui y provoque une lyse avec culture secondaire de manière apparemment identique à ce qui est observé avec les souches convertibles. Or la culture secondaire de ces 4 souches n'est pas agglutinable par le sérum 1,3,19. Les bactéries ne sont apparemment pas lysogénisées : nous avons isolé ces cultures secondaires, ensemencé des boîtes de gélose au moyen de colonies provenant de ces isolements : ces cultures sont sensibles au bactériophage 1 (40) comme la culture originelle. Les titrages de phages sur ces couches sont impossibles car ils ne produisent pas de plages sur elles. Sur ces souches les phages sont pourtant adsorbés : des cultures en phase exponentielle de S. degonia et de S. omifisan titrant 5×10^7 par ml ont été additionnées de phage de manière à avoir environ 1 particule de phage pour 10 bactéries. La même dilution de phage a été faite dans un flacon témoin ne contenant que du bouillon stérile. Les suspensions en fiole d'Erlenmeyer ont été placées au bain marie à 37° avec agitation. Les prélèvements effectués à différents temps ont été stérilisés par le chloroforme, centrifugés, dilués, en bouillon et titrés par la méthode de la double couche sur S. johannesburg 5/58 1-. Les résultats furent les suivants /

Temps	Culture S. degania	Culture S. omifisan	Témoins
30 minutes	$2,9 \times 10^6$	$1,5 \times 10^3$	3×10^6
2 heures	6×10^5	10^2	
4 "	6×10^4	10^2	
6 "	10^4	0	
8 "	2×10^3	0	
24 "	60	0	2×10^6

Dans la culture de S. degania le phage disparaît donc lentement mais progressivement du surnageant de la culture au cours de la multiplication bactérienne. Dans celle de S. omifisan, la fixation est au contraire beaucoup plus rapide

Nous avons recherché par immunofluorescence, en faisant des prélèvements des cultures en milieu liquide, si des bactéries de ces sérotypes en contact avec le phage n'acquièrent pas le facteur 1. Dans la culture de S. degania et S. omifisan, nous avons vu quelques rares bactéries fluorescentes 15 minutes après contact avec le phage, tandis que nous n'en avons trouvé aucune avec S. boksburg. Rappelons que, avec les cultures facilement convertibles, et lysogénisables, toutes les bactéries sont fluorescentes, c'est-à-dire ont acquis le facteur 1, au bout du même temps.

Ceci permet donc de penser que le phage se fixe sur les bactéries de ces sérotypes, ne s'y multiplie pas et ne fait apparaître le facteur 1 que chez un faible nombre de bactéries dont la proportion au sein de la population diminue au cours du développement de la culture, puisqu'il n'y a pas de lysogénisation concomitante. Avec ces souches il y aurait une "conversion abortive".

Le bactériophage 1 (40) préparé sur S. johannesburg 5/58 rend lysogènes, les couches du groupe R que nous avons citées, quand il leur fait acquérir le facteur 1 : une colonie 1+ de chacune d'entre elles fût ensemencée en bouillon, et après 5 heures d'incubation à 37 °, les cultures furent stérilisées après le chloroforme et centrifugées. Les surnageants déposés sur des boites de gélose ensemencées au moyen des souches 1- convertibles y provoquent une lyse avec culture secondaire qui est agglutinable par le sérum anti S. senftenberg. L'acquisition du facteur 1 s'accompagne donc chez ces souches de lysogénisation. Une seule souche fit exception : dans les conditions expérimentales indiquées, nous avons échoué à quatre reprises successives à mettre en évidence des bactériophages dans le surnageant de cultures en bouillon (irradiées aux U.V. ou non) de S. riogrande à laquelle nous avions fait acquérir le facteur 1 : ce surnageant ne provoque pas de lyse quand on en dépose 1 goutte sur 11 souches 1- du groupe R, dont la souche originelle de S. riogrande. La culture 1+ est cependant devenu immune au phage 1 (40).

En résumé, cette préparation de bactériophage provoque une lyse voilée sur 17 des 19 souches 1- utilisées. Elle fait acquérir

le facteur 1 à 12 de ces 17 souches. L'acquisition simultanée de la lysogénie par mise en évidence du phage dans le surnageant de culture fût démontrée chez 11 sur 12 des souches ayant acquis le facteur 1.

La méthode d'immunofluorescence indirecte permet de constater que le facteur 1 apparaît entre 8 et 10 minutes après addition du phage à une culture en phase exponentielle de S. johannesburg.

Le bactériophage est sans action sur les cultures ayant acquis le facteur 1. Il est aussi sans action sur les souches des sérotypes suivants ayant originellement le facteur 1 : S. bulawayo, S. bukawu, S. johannesburg 6/58, 7/58, 8/58, 1/61, S. tilene, S. suarez, 1/61 et 2/61, S. allandale, S. duval, S. driffield. Trois souches originellement 1+ sont au contraire sensibles à cette préparation de bactériophage qui y provoque une lyse voilée : S. johannesburg Copenhague, et nos deux souches de S. fandran. La culture secondaire de ces trois souches est agglutinée sur lame par le sérum anti 0 et H correspondant à leur formule antigénique de la même façon que la culture originelle. Il serait paradoxal que cette action lytique soit due au phage convertisseur lui-même. Il semblait plus vraisemblable que cette action serait due à un autre phage tempéré hébergé par les souche sur lesquelles était préparé le phage convertisseur. Pour le contrôler des filtrats de cultures des S. johannesburg 1- originelles, irradiées aux U.V. ont été préparés. Ces filtrats, qui ne contiennent donc pas le phage convertisseur pour le facteur 1, provoquent eux aussi une lyse des cultures de S. johannesburg Copenhague et S. fandran 1+. La préparation de phage 1 (40) n'était donc pas pure , mais contenait en plus du phage convertisseur un autre phage tempéré.

La seule souche 1+ 40_1+ 40_3+ dont nous disposions est S. bulawayo . L'antigène 0 de ce sérotype est sensiblement différent de celui des sérotypes possédant le facteur 40_2 puisque, comme nous l'avons dit, il avait primitivement été désigné 0 49. Nous n'avons pas pu mettre en évidence dans des cultures d'âges différents, irradiées ou non, de S. bulawayo, de bactériophage actif sur les souches 40_1, 40_2 sans facteur 1.

Etude sérologique du facteur 1 dans le groupe R.

Les sérums ont été préparés en injectant aux lapins des suspensions chauffées 2 heures à 100° suivant le protocole habituel de préparation des sérums anti-0. Les suspensions utilisées pour le titrage sont des suspensions 0 préparées par traitement à l'alcool. Les résultats des agglutinations portées sur le tableau VII montrent que :

1 - S. johannesburg convertie a bien acquis le facteur 1;

2 - le facteur 0 1 est hétérogène : la saturation par S. paratyphi A du sérum anti- S. johannesburg 1+ n'enlève pas toutes les agglutinines pour S. senftenberg. La saturation par S. senftenberg enlève les agglutinines pour S. paratyphi A, mais non pour S. bukawu, S. bulawayo, S. johannesburg 1+. Au contraire la saturation par S. bukavu enlève toutes les agglutinines du sérum anti-S. johannesburg converti et inversement S. johannesburg 1+ enlève toutes les agglutinines du sérum anti S. bukawu . Tout se passe donc comme si S. senftenberg avait un sous-facteur 1 de plus que S. paratyphi A, S. bukawu, S. bulawayo, S. johannesburg 1+, deux sous-facteurs supplémentaires ce que l'on peut arbitrairement représenter de la façon suivante :

S. paratyphi A	la...
S. senftenberg	la 1b ...
S. bukawu	la 1b 1c...
S. bulawayo	la 1b 1c...
S. johannesburg 1+	la 1b 1c ...

ceci ne portant évidemment que sur les résultats que nous avons mentionnés et n'excluant pas l'éventualité de l'existence d'autres sous-facteurs propres à S. paratyphi A et S. senftenberg.

3 - Les agglutinogènes 0 de S. johannesburg converti sont identiques à ceux de S. bukawu.

Nous n'avons pas trouvé de modification de l'agglutinabilité sur lames de souches converties 1+ dans le sérum 40_2 ni d'apparition d'une agglutinabilité de ces souches dans le sérum 40_3.

En résumé :

Les formules des antigènes 0 des Salmonella du groupe R peuvent être, soit 40_1 40_2 , soit $1,40_1$, 40_2 , soit $1,40_1$, 40_3. Un phage isolé d'une culture $1,40_1$, 40_2 peut convertir des Salmonella ayant des facteurs antigéniques 40_1, 40_2. Celles-ci deviennent agglutinables par le sérum 1 et lysogènes pour ce phage convertisseur. Le facteur 1 apparaît en 8 à 10 minutes à la surface des bactéries, après mélange de celles-ci à la préparation de bactériophage. Avec certaines souches telles S. degania et S. omifisan, la conversion peut être abortive : le phage se fixe, mais ne se multiplie pas. Tandis que le facteur 1 peut être mis en évidence par immunofluorescence chez toutes les bactéries

TABLEAU VII

Serums anti	Suspensions O						
	S. riogrande $40_1,40_2$	S. bukawu $1,40_1,40_2$	S. bulawayo $1,40_1,40_3$	S. johannesburg 1/58	S. johannesburg 1/58 convertie $1,40_1,40_2$	S. paratyphi A 1,2,12	S. senftenberg 1,3,19
- S.riogrande	6.400	1.600	400	6.400	3.200	0	0
- S.bukawu	1.600	800-1600±	200	1600-3200±	3.200	200	800
- S.bukawu saturé par							
S.paratyphi A						0	400
S.senftenberg						0	0
S.riogrande	0	400	100-200±	0	800	200	800
S.riogrande + S.bulawayo	0	0	0	0	0	0	0
S.riogrande + S.senftenberg	0	200	100	0	400	0	0
S.johannesburg 5/58 1+		0			0		
- S.johannesburg 5/58 1+	1.600	800	200-400±	1.600	3.200	100	400-800±
- S.johannesburg 5/58 1+ saturé par							
S.johannesburg 1- originel	0	400	400	0	800	50-100±	400
S.johannesburg 1- + S.paratyphi A	0	400	100	0	800	0	200-400±
S.johannesburg 1- + S.senftenberg	0	400	100	0	800	0	0
S.bukawu		0			0		
- S.bulawayo	3.200	1600-3200±	1.600	6.400	6.400	200	200
- S.bulawayo saturé par							
S.paratyphi A						0	400
S.senftenberg						0	0
S.johannesburg 1+	0	0	200-400±	50±	0	0	0

une dizaine de minutes après mélange de la préparation du phage et d'une culture normalement convertible, on ne voit, en cas de conversion abortive, que quelques bactéries fluorescentes. Puis, celles-ci disparaissent au cours du développement de la culture, le facteur 1 se trouvant dilué lors de la multiplication.

L'étude sérologique du facteur 1 montre qu'il est sérologiquement identique chez des souches sauvages ou converties du groupe R. Il n'a qu'une fraction commune avec S. paratyphi A et S. senftenberg.

C- ACQUISITION DU FACTEUR 1 CHEZ DES SALMONELLA DU GROUPE T PAR CONVERSION BACTERIOPHAGIQUE.

Le facteur 0 caractéristique de ce groupe de Salmonella est 42.

Certains sérotypes peuvent posséder le facteur 1 : S. egusitoo, S. kampala, S. maricopa, S. kaneshie, S. harverstehude, S. loenga. D'autres en sont démunis tels que S. chinovum, S. uphill, S. nairobi, S. weslaco, S. detroit, S. rand.

Les souches utilisées provenaient du Centre International des Salmonella de Copenhague, à l'exception de S. uphill dont nous avions 6 souches en collection et de S. nairobi dont nous avions 1 souche.

La méthode utilisée pour rechercher une conversion lysogénique éventuelle fût celle précédemment décrite. Les surnageants de culture de S. kampala, S. harvestehude et S. maricopa, provoquèrent une lyse voilée sur certaines cultures des souches 1-. L'agglutination des cultures secondaires montra que le filtrat de S. maricopa fait acquérir le facteur 1 à S. weslaco. Nous avons préparé en partant de plages trois fois réisolées, un stock de bactériophage sur S. weslaco dont le titre est 10^{10}. Les plages en cocarde de 3 mm de diamètre environ sont très faciles à compter. Nous appellerons ce bactériophage $1,42_2$.

Cette préparation déposée en goutte sur des cultures de Salmonella du groupe T ensemencées sur boîte de Petri, cause sur toutes une lyse voilée. Trois souches de S. uphill, S. rand et S. nairobi deviennent 1 agglutinables (Tableau VIII). Au contraire S. detroit et S. chinovum qui donnent aussi sous l'action de ce phage une lyse voilée restent 1 agglutinables. Comme dans le cas de S. boksburg, S. degania et S. omifisan du groupe R, les essais de passage du phage sur S. détroit et S. chinovum donnèrent un résultat négatif : le phage se fixe sur ces souches mais

TABLEAU VIII

Action du bactériophage provenant de S. maricopa (1, 42) et ayant subi des passages sur S. weslaco (42) - Titre 10^{10}- sur des souches 1- du groupe T.

S. uphill	5/58	LV 1-
	6/58	LV 1+
	10/58	LV 1+
	2/59	LV 1-
	7/59	LV 1+
	1/61	LV 1-
S. detroit		LV 1-
S. chinovum		LV 1-
S. rand		LV 1+
S. nairobi		LV 1+
S. weslaco		LV 1+

LV = Lyse voilée

1+ = culture secondaire agglutinable sur lames par le sérum anti S. senftenberg .

1- = culture inagglutinable dans ces conditions.

ne se multiplie pas. Les titrages effectués à des temps différents de la culture nous ont donné des résultats du même ordre que ceux rapportés ci-dessus avec S.degania et le phage 1 (40). Les repiquages des cultures secondaires sur milieu gélosé restent sensibles au phage qui provoque une lyse voilée comme sur la culture originelle. Mais toutes les cultures secondaires restent 1 inagglutinables. Une expérience faite en employant l'immunofluorescence pour déœler des bactéries 1+ dans une culture de S. detroit mise en contact avec le phage ne nous a permis de voir, au bout de 15 minutes, que de très rares bacilles fluorescents parmi de nombreuses bactéries qui n'étaient visibles qu'en enlevant le filtre U.V. Dans ce cas la conversion "avorterait" comme S. degania et S. omifisan.

Les six cultures ayant acquis le facteur 1 sont lysogénisées et la méthode d'immunofluorescence nous a permis de voir que chez elles le facteur 1 apparaît 10 à 12 minutes après mise en contact des bactéries 1- et du phage convertisseur.

F. KAUFFMANN et A. PETERSEN ont publié en 1963 une étude sérologique des groupes 0 30, 42, 43, 48 et 50 . Ils ont subdivisé le facteur 42 en deux sous-facteurs. Le premier (42_1) n'est trouvé que chez les sérotypes démunis du facteur 1, le second chez ceux qui le possèdent. Un sérum 42_1 a été préparé en immunisant un lapin avec S. weslaco sauvage 1- et un sérum 42_2 en saturant un sérum anti S. loenga (1, 42_1, 42_2) par S. weslaco (42_2) et S. senftenberg (1, 3, 19). Nous avons ainsi confirmé les observations de KAUFFMANN et PETERSEN, d'une part avec 11 souches sauvages 1- et six 1+, d'autre part avec six souches converties 1+ : l'agglutinabilité 1 va de pair avec l'agglutinabilité 42_2.

La conversion se traduit donc dans le groupe T d'une manière analogue sérologiquement à celle observée dans le groupe G où le facteur 1 est lié au 37.

Le phage convertissant le facteur 1 du groupe T peut donc par analogie être appelé (1, 42_2).

Etude sérologique du facteur 1 du groupe T

Un immun-sérum anti S. weslaco converti 1+ fût préparé sur lapin. Après saturation par S. weslaco originel 1-, ce sérum fut titré à partir de 1/50 vis à vis des suspensions 1+ et 1- de divers groupes, puis saturé à nouveau par les sérotypes correspondants. Les résultats indiqués dans le tableau IX montrent que le facteur 1 acquis par S. weslaco par lysogénisation n'est pas identique à celui des sérotypes des groupes 0 hétérologues utilisés

dans cette expérience, ou encore que la lysogénisation a fait apparaitre en même temps que le facteur 1 commun avec les sérotypes des groupes 0 homologues un sous-facteur qu'ils ne possédaient pas.

Nous avons d'autre part comparé le facteur 1 de S. typhi murium avec celui de S. durham converti 1+ 37+ (groupe G), de S. johannesburg converti 1+ (groupe R) et de S. weslaco converti 1+ (groupe T). Un sérum anti S. typhi murium 1, 4, 12 (34/59) fût saturé d'une part par la variante 1- (34 bis/59) de la souche homologue, puis par les trois sérotypes mentionnés des groupes G, R et T. Les résultats des titrages effectués à partir du 1/50 vis-à-vis des suspensions 0 qui sont rapportés dans le tableau X démontrent la complexité des divers facteurs 1.

En résumé :

La présence du facteur 1 chez les Salmonella du groupe T est elle aussi en corrélation avec la présence chez les bactéries du génome d'un phage. Le phage peut convertir la majorité des souches 1- de ce groupe, les rendant 1+ et lysogènes. Cependant la conversion peut être abortive avec certaines souches, telles S. detroit et S. chinovum. Le phage est adsorbé par les bactéries mais ne se multiplie pas. De même que dans le groupe G le facteur 1 est toujours accompagné du facteur 37, dans le groupe T le facteur 1 est toujours accompagné, tant chez les souches 1+ sauvages que chez les souches 1+ converties, par le sous-facteur 42_2.

Une étude comparative des agglutinines anti 1 des groupes A B D, G, R et T montre que ces facteurs désignés de manière uniforme dans le schéma de KAUFFMANN-WHITE ne sont pas sérologiquement identiques. Les anticorps correspondants n'ont qu'une partie de leur spécificité qui soit commune. Ces facteurs 1 dont l'élaboration peut être induite par conversion bactériophagique, sont sérologiquement différents non seulement entre eux, mais encore du facteur 1 présent chez les Salmonella du sous-groupe E_4 (1, 3, 19) telle S. senftenberg.

TABLEAU IX — **Etude sérologique du facteur O1 du groupe T.**

SUSPENSIONS	*S. weslaco* 1— (T)	*S. weslaco* 1+ (T)	*S. paratyphi* A 1+ (A)	*S. senftenberg* (E_4)	*S. bukavu* 1+ (R)	*S. bulawayo* 1+ (R)	*S johannesburg* 5/58 1+ (R)	*S.johannesburg* 5/58 1— (R)	*S. rotterdam* 1+ (G_1)	*S. willemstad* 1+ (G_1)	*S. tanger* 1+ (G_1)	*S. mississipi* 1+ (G_2)	*S. durham* 1— 37— (G_2)	*S. durham* 1+ 37+ (G_2)	*S. rand* 1+ (T)	*S. egusitoo* 1+ (T)
Sérum *S. weslaco* 1+	12 800	12 800	100	800	800	400	800	0	400	400	200	400	0	200	6 400	3 200
Sérum *S. weslaco* 1+ saturé par *S. weslaco* 1—	0	800	50	400	400	200	400	0	400	400	400	400	0	100	800	800
saturé ensuite par les souches 1+ suivantes :																
S. senftenberg		200		0												
S. durham		800												0		
S. johannesburg		200					0									
S. rotterdam		800							0							
S. paratyphi A		800	0													
S. bulawayo		200				0										
S. bukavu		400			0											
S. willemstad		800								0						
S. tanger		400									0					
S. mississipi		400										0				
S. rand		0													0	
S. egusitoo		0														0

TABLEAU X. — **Saturation d'un sérum anti O 1 *S. typhi murium* par des souches 1+ converties des groupes G R T E_4 et A.**

SUSPENSIONS O	*S. typhi murium* 1—	*S. typhi murium* 1+	*S. paratyphi* A 1+	*S. senftenberg*	*S. durham* 1+ 37+ (G)	*S. johannesburg* 1+ (R)	*S. weslaco* 1+ (T)
Première saturation par *S. typhi murium* 1—	0	3 200	3 200	800	400	3 200	3 200
Deuxième saturation par *S. durham* 1+ 37+		400	400	800	0	400	400
Deuxième saturation par *S. johannesburg* 1+		100	400	800	400	0	800
Deuxième saturation par *S. weslaco* 1+		200	100	400	400	400	0
Deuxième saturation par *S. senftenberg*		400	100	0	0	0	50
Deuxième saturation par *S. paratyphi* A 1+		100	0	50	50	50	50

D - RAPPORTS ANTIGENIQUES ENTRE LES BACTERIOPHAGES SUSCEPTIBLES DE FAIRE ACQUERIR LE FACTEUR 1 AUX SOUCHES DES GROUPES A,B,D, G, R et T.

Les préparations utilisées sont les suivantes :

1 - PLT_{22} dont la souche nous avait été adressée par le Dr. STOCKER. Notre préparation a été faite sur S. typhi murium SL 375 et a un titre sur cette Salmonella de $1,5 \times 10^{11}$

2 - 1,37 provenant de S. poona 1/62 1+ 37+ et préparé sur S. durham. Son titre est de 5×10^{10} sur cette souche.

3 - 1 (40) provenant de S. johannesburg 1+ 7/58 et préparé sur S. johannesburg 5/58. Son titre est sur cette souche 4×10^{9}.

4 - $1,42_2$ provenant de S. maricopa, préparé sur S. weslaco et dont le titre sur cette souche est 10^{10}.

Les constantes d'inactivation furent les suivantes lors des titrages effectués aussitôt après la saignée de lapins.

- Sérum anti-phage PLT_{22} K= 178. Au 1/500 il en donne en 10 minutes une inhibition de 93 % . Ce sérum de titre élevé fût employé à la dilution du 1/250.

- Sérum anti-phage 1 (40) K = 75. Au 1/250 il donne en 10 minutes une inhibition de 95 %. Ce sérum fût employé aux mêmes dilutions que le précédent.

- Sérum anti-phage $1,42_2$ K compris entre 4 et 5,75. Au 1/10 il donne en 10 minutes une inhibition de 98,3 % et au 1/50 en 20 minutes une inhibition de 90 %. Ce sérum d'activité assez faible ne fût employé qu'au 1/10.

Les titrages ont été effectués suivant la méthode préconisée par M. ADAMS (1959).

Résultats :

Ils sont résumés dans le tableau XI.

Le sérum anti-phage PLT_{22} n'exerce aucune action sur le phage 1,37, n'a qu'une action négligeable sur 1 (40) et $1, 42_2$.

TABLEAU XI

ACTION INHIBITRICE CROISEE
DES SERUMS ANTI-PHAGES CONVERTISSEURS POUR LE FACTEUR O:1

Bactériophages	SERUMS ANTI-PHAGES								
	PLT_{22} 1/250	1,37 1/10	1,37 1/50	1,37 1/250	1 (40) 1/10	1 (40) 1/50	1 (40) 1/250	$1,42_2$ 1/10	Témoin sans sérum
PLT_{22}	3	70	100	243	147	171	291	161	240
1,37	451	0	0	60	230	210	260	420	500
1 (40)	202	32	306	700	0	0	30	230	700
$1,42_2$	504	253	416	803	738	834	951	40	1000

Le sérum anti-phage 1,37 au 1/50 fait diminuer environ de moitié le nombre des plages des bactériophages PLT_{22}. 1 (40) et $1,42_2$ alors qu'à cette dilution, l'inhibition du bactériophage homologue est totale. Cette inhibition hétérologue n'existe plus avec la dilution du 1/250. alors que l'inhibition du phage homologue est de 88 %. Avec la dilution au 1/10, le nombre de plages des phages PLT_{22} et $1,42_2$ est réduit de 71 % et 75 %. L'inhibition est plus élévée (95 %) pour le phage 1 (40) dont on ne dénombre plus que 30 phages au lieu de 700 sur la boîte témoin. A cette dilution, l'inhibition du phage homologue est évidemment totale.

Le sérum anti-phage 1 (40) est sans aucune action notable sur les phages PLT_{22}, 1,37 et $1,42_2$ aux trois dilutions employées alors qu'à 1/250 l'inhibition est totale sur la préparation du phage homologue diluée à 10^{-4}, de 96 % à 10^{-3}.

Le sérum antiphage $1,42_2$ est sans action importante sur les phages PLT_{22} et 1,37. Il diminue des 2/3 le nombre des plages du phage 1 (40), alors que l'inhibition du phage homologue est totale avec la dilution à 10^{-4}, de 96 % avec la dilution à 10^{-3}.

On peut donc conclure de ces résultats que les quatre bactériophages susceptibles de convertir des Salmonella en leur faisant acquérir le facteur 1 ont une spécificité sérologique différente. La seule réaction croisée de faible intensité que nous ayons trouvée est celle du sérum anti-phage 1,37 sur le phage 1 (40). Encore s'agit-il vraisemblablement d'une action propre au lapin qui a servi à préparer ce sérum, puisque, inversement le sérum 1 (40) est sans action sur le phage 1,37.

D'autre part nous avons recherché l'action lytique éventuelle des quatre préparations de phage sur les souches des groupes 0 hétérologues facilement convertibles par le bactériophage homologue. Nous n'en avons trouvé aucune lors de ces essais croisés.

Il est donc justifié de conclure que ces quatre bactériophages sont différents d'une part par leurs caractères antigéniques d'autre part par leur spécificité d'action.

Des expériences effectuées suivant le même protocole, destinées à étudier les rapports entre le phage 27 et le phage 1,37 nous ont montré qu'ils étaient totalement différents : le phage 1,37 est sans action sur les souches des groupes A B D convertibles par le phage 27 ; celui-ci est dépourvu d'action convertissante sur les Salmonella 37- convertibles par le phage 1,37 ; enfin le sérum anti-phage 27 n'inhibe pas la conversion de S. durham par le phage 1,37 et inversement le sérum anti-phage 1,37 est sans action sur le phage 27.

Résumé :

Le facteur 1 peut être converti chez les Salmonella par des phages suivants :

- phage iota ou PLT_{22} pour les groupes A B D (cf. historique);

- phage 1,37 pour le groupe G. Ici le facteur 1 est toujours accompagné du facteur 37. Ces deux facteurs sont donc déterminés très vraisemblablement par une structure unique de la fraction polyosidique de l'antigène 0;

- phage 1 (40) pour le groupe R.

- phage 1, 42_2 pour le groupe T. Le facteur 1 est toujours accompagné chez les souches 1+ du sous-facteur 42_2.

L'étude sérologique de ces phages, en employant les réactions d'inhibition des anti-sérums montre que ces phages sont différents. La présence chez les Salmonella de facteurs 0 1 désignés de manière identique dans le schéma de KAUFFMANN-WHITE (mais qui ne sont en réalité, comme nous l'avons vu au chapitre précédent, qu'apparentés mais non identiques sérologiquement) est donc en corrélation avec celle de phages qui diffèrent d'un groupe à l'autre, d'une part par leur spécificité d'action, d'autre part par leurs caractères antigéniques. Ces phages diffèrent aussi par ces caractères du phage 27. Toutefois les Salmonella des groupes sérologiques ABD du schéma de KAUFFMANN-WHITE se comportent de manière identique quant à leur sensibilité à deux phages convertisseurs : PLT_{22} et 27 qui sont respectivement convertisseurs pour les facteurs 1 et 27.

oOo

CHAPITRE IV

CONVERSIONS AYANT TRAIT AUX FACTEURS 6 et 14

A - ACQUISITION DES FACTEURS 6, 14 PAR LES SEROTYPES DU GROUPE K (0:18) SOUS L'EFFET DE LA LYSOGENISATION.

Tous les sérotypes de ce groupe à l'exception de S. siegburg, possèdent uniquement le facteur 0:18. La formule 0 de S. siegburg est 6, 14, 18.

Ayant reçu d'un même expéditeur simultanément une souche de S. siegburg (6, 14, 18:z_4, z_{23}) et une souche de S. cerro (18:z_4, z_{23}), de même origine zoologique (tortues), nous avons recherché si les différences entre les facteurs 0 ne seraient pas, ici encore, liées à la présence du génome d'un phage tempéré chez la souche de S. siegburg. Une goutte de surnageant de la culture irradiée de S. siegburg, tuée par le chloroforme, fût déposée sur une boîte de Pétri ensemencée par S. cerro. Il se produisit une lyse voilée et la culture secondaire devint agglutinable par les sérums 6, 7 - 6, 8 - 6, 14, 24. L'agglutination témoin en eau salée hypertonique fût négative.

L'agglutination des colonies séparées provenant de l'isolement de cette culture secondaire donna le résultat suivant ; cinq colonies agglutinables par les sérums contenant les agglutinines 6, neuf colonies inagglutinables. Les repiquages des colonies 6-inagglutinables se comportent à l'égard du phage comme la culture originelle, les autres sont résistantes à son action.

Les cultures 6 agglutinables furent repiquées en bouillon, et après séjour de 5 heures au bain-marie à 37°, stérilisées par le chloroforme et centrifugées : le surnageant produit une lyse voilée sur la culture de S. cerro originelle et la culture secondaire est agglutinable par les 3 sérums contenant le facteur 6 : les bactéries devenues agglutinables par les sérums 6 sont lysogénisées.

Un stock de phage fût préparé : après 3 passages sur S. cerro sont titre est de 4×10^{10}, après 4 passages, de 10^{11}. Pour la commodité nous appellerons ce phage 6, 14(18).

Des lapins furent immunisés par la culture originelle de S. cerro, par la culture convertie et par le phage.

I - ACTION DU PHAGE 6, 14(18) SUR DIVERSES SOUCHES DU GROUPE K.

Ce phage provoque l'apparition d'une lyse voilée sur 4 autres souches de S. cerro de notre collection, sur la souche de S. cerro du Centre International des Salmonella, sur les souches de S. sinthia et S. beloha du Centre International. Toutes les cultures secondaires furent agglutinables par les sérums contenant les agglutinines 6. La présence de phage fût démontrée dans les surnageants de toutes les subcultures, sauf dans ceux de S. sinthia (même après irradiation U.V.).

II - CONTROLE DE L'ACQUISITION DES FACTEURS 6, 14

1 - Agglutination des cultures originelles et des cultures converties.

Les résultats sont rapportés dans le tableau 12. Si les suspensions des cultures originelles sont agglutinées à des taux faibles par les sérums contenant les agglutinines 6_1, 8 et 1, 6, 14, 25 (fait signalé par KAUFFMANN (1941)), les augmentations de titres dans tous les sérums contenant les agglutinines 6 ou 6, 14 sont significatives.

2 - Etude des agglutinines contenues dans le sérum anti-S. cerro converties.

Les résultats sont rapportés dans le tableau 13. Ils conforment l'acquisition du facteur 6 : après saturation par S. cerro originel, toutes les cultures possédant ce facteur restent agglutinées. Les saturations par les deux variantes de S. cholerae suis ne permettent pas de dire si ce facteur 6 correspond à 6_1 ou 6_2, d'autant que dans les deux cas S. bovis morbificans reste agglutinée. Les agglutinines 6 sont au contraire totalement saturées par S. bovis morbificans et S. onderstepoort.

Le facteur 14 est élaboré par la souche lysogénisée : après saturation par S. cerro originel + S. bovis morbificans, les sérotypes contenant le facteur 14 (S. carrau S. onderstepoort et S. boecker) restent agglutinées.

- TABLEAU XII

	Serums					
	18 S. cerro	$6_1,7$ S.cholerae suis(1350)	$6_1,8$ S.newport	6,14,24 S.carrau	1,6,14,25 S.onderstepoort	14 S.boeker saturé par S. thompson
S.cerro orig.	1.600	50±	100	0	100	0
S.cerro convertie	1.600	400	800	1.600	3.200	400
S.sinthia orig.	1600-3200±	0	100	0	100	0
S.sinthia convertie	3.200	400	1.600	1.600	3.200	400
S.beloha orig.	1.600	0	100	0	100	0
S.beloha convertie	1.600	400	800	800	3.200	800
S.siegburg	1.600	400	800	800	1.600	400
S.boeker	800	200				800
S.carrau	200	200		6.400	1.600	800
S.onderstepoort	200	800		3.200	12.800	800

Serum $6_1,7$: Titre homologue 1.600

Serum $6_1,8$: Titre homologue 6.400 S.paratyphi C 800

0 = < 50

NB - 6 autres souches sauvages de S. siegburg étaient fortement agglutinées sur lames dans les serums $6_1,7$, $6_1,8$ et 6,14,24. Ces serums n'agglutinent pas sur lames les 6 souches originelles de S.cerro, S.sinthia, S.beloha et S. langenhorn

TABLEAU XIII

Serum anti S.cerro convertie

	Avant saturation	Après saturation						
		par S.cerro originel (18)	par S.cerro originel + S.cholerae suis 1350 (6_1,7)	par S.cerro originel + S.cholerae suis 5210 (6_2,7)	par S. cerro originel + S.onderstepoort (1,6,14,25)	par S. cerro originel + S.bovis morbificans ($6_1$8)	par S. cerro originel + S.boecker (6,14)	directe par S.siegburg seulement (6,14,18)
S. cerro originel (18)	800	0						0
S. cerro convertie (6,14,18)	3.200	1.600	800	1.600	400	800	400	0
S. cholerae suis 1350(6_1,7)	800	800	0	0	0	0	0	0
S. cholerae suis 5210(6_2,7)	1.600	800	0	0	0	0	0	0
S. bovis morbificans ($6_1$8)	1.600	1.600	400	800	0	0	50	0
S. carrau (6,14,24)	1.600	1.600	800	800	0	800	0	0
S. onderstepoort (1,6,14,25)	1.600	1.600	800	800	0	800	100	0
S. boecker(6,14)	3.200	800	800	800	0	200-400±	0	0
S. sinthia originelle (18)	800	0	0	0	0	0	0	0
S. sinthia convertie(6,14,18)*	3.200	1.600	1.600	800	200	1.600	800	0
S. beloha originelle (18)	800	0	0	0	0	0	0	0
S. beloha convertie (6,14,18)	1.600	400	800	400	400	800	800	0
S. siegburg (6,14,18)	1.600	800	800-1600±	400-800±	400	1.600	800	0

0 = < 50

Le facteur 24 n'apparaît pas : la saturation par S. cerro originel + S. onderstopoort ne laisse pas subsister d'agglutinines pour S. carrau. Il reste au contraire dans ce cas des agglutinines non identifiées correspondant aux souches converties. Une observation analogue avait été faite pour S. typhi convertie 27+ (p. 22).

III - SPECIFICITE SEROLOGIQUE ET SPECIFICITE D'ACTION DU PHAGE 6, 14(18) ET PROPRIETE TRANSDUCTRICE.

Le sérum antiphage 6, 14(18) employé à la dilution de 1/50 fait baisser, après 10 minutes de contact, le nombre de plages du phage homologue de 355 à 31 (K= 12). Il n'a aucune action inhibitrice sur les phages convertisseurs suivants :

PLT_{22}	(facteur	1	dans les groupes	A, B, D)	
27	(facteur	27	dans les groupes	A, B, D)	
1, 37	(facteurs	1 et 37	du	groupe	G)
1(40)	(facteur	1	du	groupe	R)
$1, 42_2$	(facteurs	1 et 42_2	du	groupe	T)
$6_1(7)$	(facteur	1	du	groupe	C_1)
15	(facteur	15	des	groupes	E et D_2)
34	(facteur	34	des	groupes	E et D_2)

Le phage 6, 14(18) est sans action sur les 7 souches de S. siegburg de notre collection (6 14, 18) ce qui était attendu puisque ces souches sont lysogènes, mais est aussi inactif sur :

- S. carrau, S. soahanina, S. charity, S. onderstepoort, S. madelia, S. lindern, S. finkenwerder S. heves, S. sundswall, S. bahrenfeld, (groupe H),

- S. sanga, S. virginia, S. emek, S. kentucky, S. pikine, S. corvallis, S. albany (sous-groupe C_3, possédant les antigènes 8 ou (8) 20 sur lesquelles le phage 6_1 (7) est par ailleurs sans action).

- S. cholerae suis 1350 et 52i0 (sous-groupe C_1, la première possédant le facteur 6_1 et étant lysogène par un phage convertisseur actif sur la seconde).

Réciproquement les filtrats de toutes les souches mentionnées du groupe H furent sans action lytique sur les sérotypes 0:18 convertibles par le phage 6, 14, (18) à l'exception de celui de S. onderstepoort qui provoqua une lyse voilée sur S. sinthia, S. beloha et 3 souches de S. cerro. Mais les cultures secondaires ne sont pas agglutinables par le sérum 14.

Le phage $6_1(7)$ qui titre 8×10^{10} fût sans action sur les sérotypes convertibles du groupe K. Les phage 6, 14, (18) est donc différent des phages convertisseurs mentionnés d'une part par sa spécificité sérologique propre, d'autre part par la spécificité d'action sur les cultures des divers sérotypes. Il est en particulier différent du phage découvert par ESCOBAR et EDWARDS, responsable de l'élaboration des facteurs 6_1 par S. cholerae suis.

B - ACQUISITION DU FACTEUR 14 PAR LES SEROTYPES DU SOUS-GROUPE C_1.

La formule 0 des sérotypes du sous-groupe C_1 est 6, 7, celle des sérotypes du sous-groupe C_4 est (6), (7), 14 . Ce dernier sous-groupe avait été crée par HOFMANN, KAUFFMANN et ANZ (1960) pour rassembler les souches ayant le facteur 14 en plus des facteurs 6 et 7.

L'action de filtrats d'une série de cultures de souches appartenant à neuf sérotypes du sous-groupe C_4 a été recherchée sur 29 cultures appartenant à 23 sérotypes du sous-groupe C_1 et les 8 souches du groupe K (18) convertibles par le phage issu de S. siegburg.

Les cultures du groupe K ne montrèrent aucune image de lyse. Au contraire des images de lyse avec culture secondaire furent observées sur 26 cultures du sous-groupe C_1.

Quand des cultures secondaires étaient agglutinables par le sérum 14, elles étaient réisolées et l'acquisition du facteur 14 contrôlée par agglutination sur lames de cultures séparées.

L'acquisition du facteur 14 fût confirmée chez les souches des sérotypes du sous-groupe C_1 suivantes : S. oslo, S. ohio, S. kotte, S. paratyphi C, S. cholerae suis var. kunzendorf 5210 et 1350, S. typhi suis, S. amersfoort, S. livingstone (6 souches), S. lomita, S. montevideo, S. oranienburg (2 souches), S. garoli, S. thompson, S. ness-ziona, S. kenya, S. virchow, S. mikawasima, S. lille.

La conversion a donc permis de passer des formules de :

S. lille	à celle de	S. bornum
S. livingstone	à celle de	S. eimsbuettel
S. ohio	à celle de	S. nienstedten
S. oranienburg	à celle de	S. thielallee
S. amersfoort	à celle de	S. shambat

La présence du phage susceptible de faire acquérir le facteur 14 aux Salmonella du sous-groupe C_1 (6, 7) , et pour cette raison dénommée "phage 14(6, 7)" a été démontrée dans les surnageants de toutes les cultures converties.

Un sérum antiphage a été préparé en immunisant des lapins au moyen d'une préparation faite en passant sur S. cholerae suis 5210 le phage issu de S. jerusalem (titre $1,7 \times 10^{10}$). Ce sérum a un coefficient d'inactivation (K) de 75 vis à vis du phage homologue. Il est sans action sur le phage $6_1(7)$ de ESCOBAR et EDWARDS (1964) et sans action sur le phage 6, 14(18). Réciproquement les antisérums correspondant à ces deux phages sont sans action sur le phage 14(6, 7).

Le phage 14 (6, 7) paraît avoir une action limitée aux souches du sous-groupe C_1 : 21 sérotypes des sous-groupes C_2 (8 et (8) (20), C_3, A, B, D, G et H lui sont insensibles.

En résumé :

1 - Un phage tempéré issu de S. siegburg (6, 14, 18) convertit les souches 0:18 du groupe K sur lesquelles son action a été étudiée : 6 souches de S. cerro, S. sinthia, S. beloha. Il fait acquerir à ces souches les facteurs 6, 14 et les lysogénises. S. siegburg qui possède les mêmes antigènes H que S. cerro n'en serait en conséquence que la variante lysogénisée et non un sérotype différent. Le phage est sérologiquement différent de tous ceux qui ont fait l'objet de ce travail. Il est en particulier différent du phage déterminant l'apparition du facteur 6_1 chez S. cholerae suis.

2 - Un phage issu de cultures de sérotypes du sous-groupe C_4 dont l'antigène 0 est désigné (6), (7), 14 fait acquérir le facteur 14 à des sérotypes du groupe C_1 (6, 7) et les lysogénise. Ce phage

est antigéniquement différent du phage faisant apparaître les facteurs 6 14 dans les cultures 18 du groupe K et du phage responsable du facteur 6_1 chez S. cholerae suis. L'individualité du sous-groupe C_4 est donc discutable : nos résultats démontrent que les sérotypes rangés dans ce sous-groupe ne sont très vraisemblablement que des variantes lysogénisées par le phage 14(6, 7) des sérotypes du sous-groupe C_1.

oOo

CHAPITRE V

CONVERSION PAR LES PHAGES EPSILON 15 et 34

A - CHEZ LES SALMONELLA DU GROUPE E

Il nous a paru intéressant de reprendre les travaux des auteurs japonais en les étendant à l'étude de sérotypes du sous-groupe E_4 (1, 3, 19) et de S. dessau dont la formule est 1, 3, 15, 19.

Les souches utilisées furent les suivantes :

Sous-groupe E_2 (3, 15) : S. halmstad, S. lanka, S. pankow, S. kinshasa.

Sous-groupe E_3 (3, 15, 34) : S. canoga.

Sous-groupe E_4 (1, 3, 19) : S. yalding, S. westerstede, S. ahmadi, S. korlebu, S. senftenberg. Nous y avons ajouté S. dessau de formule 1, 3, 15, 19 qui a des facteurs 0 des sous-groupes E_2 et E_4 à la fois.

L'action de filtrats de cultures irradiées de ces souches a été recherchée sur des sérotypes du sous-groupe E_1 (3, 10) : S. westhampton, S. shangani, S. simi, S. alexander, S. uganda, qui ont des antigènes H respectivement identiques à S. halmstad, S. dessau et S. senftenberg-, S. pankow et S. ahmadi-, S. yalding-, S. korlebu-, S. kinshasa.

Trois souches 3, 15 sur 4 (S. halmstad, S. lanka, S. kinshasa) se montrèrent lysogènes de même que S. canoga (3, 15, 34) : des plages furent décelées sur, au maximum, 3 des souches 3, 10. Le filtrat de S. canoga (3, 15, 34) produisit en outre des plages sur 2 des 4 souches 3, 15.

Les filtrats des 5 souches 1,3,19, de la souche 1,3,15,19 furent sans action sur les souches 3,15 de même que celui de la souche 1,3,15,19 sur S. canoga (3,15,34).

Des passages du phage provenant de S. halmstad et S. lanka (3,15) et S. canoga (3 15,34) sur les souches 3,10 qui s'y sont montrées sensibles a permis d'obtenir une préparation active : la conversion du facteur 15 fût obtenue en passant sur S. simi (3,10) le phage issu de S. canoga. Nous n'avons pas pu obtenir d'emblée de colonies agglutinables par les sérums 15 et 34 à la fois. Si l'on fait agir sur S. simi convertie (3,10 ⟶ 3,15) un filtrat de S. illinois (3,15,34) on observe quelques plages et après passage sur S. simi, une lyse confluente avec culture secondaire. Mais celle-ci n'est pas agglutinable par le sérum 34.

Une nouvelle expérience destinée à rechercher l'action des filtrats de cultures irradiées de 6 sérotypes 3,15, 2 sérotypes 3,15,34, 7 sérotypes 1,3,19 sur 20 sérotypes 3,10 différents a montré que :

1 - toutes les souches 3,15 et 3,15,34 sont lysogènes ;

2 - la sensibilité des souches 3,10 est très diverse suivant les souches : certains phages ne sont actifs que sur une souche, d'autres agissent sur plusieurs (8 au maximum);

3 - certains sérotypes 3,10 (S. lexington, S. oxford, S. rutgers) ne sont sensibles à aucun phage;

4 - seules deux cultures secondaires (phage S. newington sur S. anatum et phage S. pankow sur S. shangani) furent directement agglutinables par le sérum 15.

5 - Les filtrats des cultures 1,3,19 et 1,3,15,19 furent sans action sur les souches 3,10.

Les mêmes filtrats de souches 3,15,34 - 1,3,19 et 1,3,15,19, ont été déposés sur les cultures de 8 sérotypes 3,15. Seuls ceux de deux sérotypes 3,15,34 (S. canoga et S. illinois) provoquèrent l'apparition de plages, l'un sur S. newington et S. lanka, l'autre sur S. kinshasa et S. pankow. Les passages du phage issu de S. canoga sur S. newington et de celui issu de S. illinois sur S. kinshasa et S. pankow permirent d'obtenir une préparation donnant sur ces souches une lyse voilée. Seule la culture secondaire de S. pankow fût agglutinable par le sérum 34.

Ces expériences effectuées avec les sérotypes du groupe E ont donc permis de convertir :

1 - S. shangani 3, 10 en 3, 15 sous l'action du phage de lysogénie de S. pankow, c'est-à-dire, de changer le sérotype S. shangani en S. pankow.

2 - S. pankow 3, 15 en 3, 15, 34 sous l'action du phage issu de S. illinois, c'est-à-dire, d'obtenir un sérotype 3, 15, 34:d: 1, 5 qui n'a pas encore été rencontré à l'état sauvage.

3 - S. simi 3, 10 en 3, 15 sous l'action du phage de lysogénie de S. canoga, c''est-à-dire, d'obtenir un sérotype nouveau de formule 3, 15:r:enz$_{15}$.

Les essais d'isolement d'un phage actif sur les sérotypes 3, 10 3, 15 et 3, 15, 34 à partir des sérotypes 1, 3, 19 ont toujours échoué. De tels essais ont très probablement été tentés par les auteurs japonais, mais comme aucune publication ne les mentionne, il est vraisemblable qu'ils n'ont pas obtenu de résultat positif.

Contrairement à ce que l'on pouvait espérer, les essais d'isolement d'un phage actif sur les souches 3, 15 à partir de cultures de S. dessau (1, 3, 15, 19) ont donné des résultats négatifs.

Ces expériences effectuées avec de nombreux sérotypes du groupe E qui ont fait de nombreuses publications citées dans l'historique, ont permis de constater que dans ce groupe la mise en évidence d'un phage convertisseur n'est pas toujours aussi aisée que pourraient le laisser supposer les travaux japonais effectués essentiellement avec S. anatum (3, 10) S. newington (3, 15) et S. thomasville (3, 15, 34).

En résumé :

Des expériences effectuées avec de nombreux sérotypes du sous-groupe E ont permis de confirmer les résultats des auteurs japonais relatifs aux facteurs 15 et 34. Les recherches dans les cultures 1, 3, 19 d'un phage actif sur les cultures 3, 10 3, 15 ou 3, 15, 34 ont échoué, de même que celles dans les cultures 1, 3, 15, 19 d'un phage actif sur les cultures 3, 15. Si les passages des formules 3, 10 en 3, 15 et 3, 15, 34 sont élucidées par les découvertes des phages epsilon 15 et 34, le passage à la formule 1, 3, 19 ne l'est pas encore. Les études effectuées avec des Salmonella des sous-groupes E_1, E_2 et E_3 ont permis de constater ici encore des différences dans la sensibilité des souches aux phages convertisseurs.

B - CONVERSION PAR LES PHAGES EPSILON 15 et 34 CHEZ LES SALMONELLA DU SOUS-GROUPE D_2

En 1956, KAUFFMANN a créé un nouveau sous-groupe nommé D_2 dans lequel il a rassemblé divers sérotypes ayant le facteur 0:9 du groupe D et un facteur particulier : 46. Un seul sérotype, S. fresno possède une formule particulière, désignée (9)46, 12 par KAUFFMANN'. Selon lui, tous les sérotypes du sous-groupe D_2, à l'exception de S. fresno, contiennent une fraction commune avec 0:10.

Ayant eu l'occasion de travailler avec divers sérotypes du sous-groupe D_2, nous avions remarqué que leurs suspensions 0 étaient agglutinées en tubes dans les sérums contenant les agglutinines 3(3, 10 - 3, 15 - 1, 3, 19) et que, réciproquement, les Salmonella des divers groupes E étaient agglutinées par le sérum anti- S. strasbourg, dont les agglutinines 3 sont saturées par S. senftenberg alors qu'elles ne le sont pas totalement par S. london (tableau XIV). Cette parenté avec des Salmonella du groupe E nous a incités à rechercher l'action des phages convertisseurs correspondant aux facteurs 15 et 34 sur les sérotypes du sous-groupe D_2.

I - ACTION DU PHAGE EPSILON 15

Les cultures de S. fresno, S. haarlem, S. baildon, S. strasbourg, S. ouakam utilisées sont les souches types déposées au Centre International des Salmonella. S. plymouth 1/64 et S. ouakam 11/58 proviennent de notre collection. Les agglutinations en tubes de ces souches sont indiquées dans le tableau XIV. Elles montrent que S. fresno diffère des autres sérotypes par son agglutinabilité dans les sérums 15, 34 et 12_2 Le sérum 34 utilisé a été saturé par une S. typhi contenant le facteur 12_2, en raison des rapports entre ces deux facteurs. S. fresno possède donc bien le facteur 34, fait qui n'avait jamais été mentionné.

Le phage epsilon 15 fût isolé de S. newington (3, 15). Le stock fût préparé sur S. anatum (3, 10). Son titre est 10^{10}

Le phage epsilon 34 fût isolé de S. illinois ((3)(15)(34)). Le stock fût préparé sur S. pankow (3, 15). Son titre est de $2,5 \times 10^9$.

Dans un essai préliminaire une goutte de préparation de phage epsilon 15 fût déposée sur les cultures ensemencées sur boîte de Petri de gélose ordinaire. Ce phage provoqua sur toutes les souches, à l'exception de S. fresno, une lyse avec

TABLEAU XIV

Sérum anti-S. strasbourg originelle

	Non saturé	Saturé par S. typhi W T 35/52 + S. anatum	Saturé par S. typhi W T 35/52 + S. senftenberg
S. strasbourg orig.	3.200	800	800
S. strasbourg 15+ 34-	3.200	800	800
S. strasbourg 15+ 34+	1.600	800	800
S. baildon orig.	3.200	800	800
S. baildon 15+ 34-	3.200	800	800
S. baildon 15+ 34+	1.600	800	800
S. plymouth orig.	3.200	800	800
S. plymouth 15+ 34-	3.200	800	800
S. plymouth 15+ 34+	1.600	800	800
S. london	1.600	100	0
S. anatum	400	0	0
S. newington	3.200	0	0
S. canoga	3.200	0	0
S. senftenberg	1.600	0	0
S. typhi T 35/52	1.600	0	0
S. typhi T_2	800	0	0

0 = < 50

culture secondaire. Les cultures secondaires de S. strasbourg, S. baildon et S. plymouth se montrèrent directement agglutinables sur lame par le sérum 15.

Au réisolement une ségrégation fût observée, comme généralement dans les conversions bactériophagiques : 6 colonies sur 15 de S. strasbourg et S. baildon, 4 sur 12 de S. plymouth étaient agglutinables par le sérum 15. Ces colonies 15+ furent réisolées. Une colonie 15+ fût repiquée sur gélose pour immuniser deux lapins au moyen d'une suspension chauffée, et sur bouillon pour contrôler la présence de phage dans le surnageant : les cultures 15+ sont lysogènes, le phage qu'elles libèrent provoque des images de lyse sur les cultures originelles et est inactif sur les cultures converties. Les repiquages des colonies 15- se comportent comme la culture originelle, c'est-à-dire, sont sensibles au phage et convertibles.

Contrôle de l'acquisition des facteur 15.

Les résultats des agglutinations des suspensions de bactéries sont rapportés dans le tableau XV.

Les immuns-sérums préparés avec les bactéries converties ont été titrés avant saturation, et après saturation, d'une part par la souche originelle pour contrôler l'acquisition du facteur 15, d'autre part par S. senftenberg pour enlever les agglutinines communes avec le groupe E, puis par S. typhi W pour enlever les agglutinines communes avec le groupe D. Les résultats sont rapportés dans le tableau XVI. Afin de simplifier ceux-ci nous n'avons rapportés que les résultats obtenus avec un sérum anti-S. strasbourg. Les résultats de titrages des autres sérums furent en effet les mêmes, les variations observées ne portant au maximum que sur une dilution en plus ou en moins.

Ces résultats démontrent que :

1 - les souches sauvages et converties 15+ possèdent le facteur 3 (agglutination des souches du sous-groupe D_2 dans les sérums 3, 10 - 3, 15 - 1, 3, 19, agglutination dans le sérum anti-S. strasbourg 15+ de S. anatum et S. senftenberg ;

2 - le facteur 15 est bien acquis par les cultures lysogénisées par le phage epsilon 15 (agglutination des cultures converties dans le sérum 15, agglutination des souches 15+ du groupe E dans le sérum anti-S. strasbourg originel ou saturé par S. senftenberg:

TABLEAU XV

	SERUMS								
	3, 10	3, 15	1, 3, 19	9	46	10	15	34	12_2
S. strasbourg	800	400	400	3.200	1.600	10	< 50	< 50	< 50
S. strasbourg 15+	400	1.600	400	3.200	1.600	< 10	800	< 50	< 50
S. strasbourg 15+ 34+	50	100	50	1.600	800	< 10	50	1.600	1.600
S. baildon	800	100	800	3.200	1.600	10	< 50	< 50	< 50
S. baildon 15+	400	1.600	800	3.200	3.200	< 10	800	< 50	< 50
S. baildon 15+ 34+	200	400	200	3.200	800	< 10	200	1.600	1.600
S. plymouth	800	200	800	3.200	1.600	10	< 50	< 50	< 50
S. plymouth I5+	400	1.600	400	3.200	1.600	< 10	800	< 50	< 50
S. plymouth 15+ 34+	200	100	100	1.600	800	< 10	100	1.600	1.600
S. fresno	100	400	200	1.600	800	< 10	100	1.600	1.600

1 - Sérum 3, 10 : anti S. london (3200)
3, 15 : anti S. newington (6400)
1, 3, 19 : anti S. senftenberg (12800)
9 : anti S. typhi saturé par S. paratyphi B (6400)
46 : anti S. strasbourg saturé par S. enteritidis + S. london (1600)
10 : anti S. london saturé par S. newington + S. senftenberg + S. minnesota (40)
15 : anti S. newington saturé par S. anatum (800)
34 : anti S. illinois saturé par S. newington + S. typhi W (1/1600 vis a vis de S. illinois et < 50 vis à vis de S. typhi 0901)
12_2 : anti S. typhi 0901 saturé par S. typhi T_2 + S. paratyphi A-13 (1/600 vis à vis de S. typhi 0901)

Les titres vis à vis de la souche homologue sont indiqués entre parenthèses.

2 - Les résultats obtenus avec S. haarlem et les deux souches de S. ouakam étant du même ordre à une dilution près, que ceux obtenus avec S. strasbourg, ne sont pas rapportés dans ce tableau.

TABLEAU XVI

Sérum anti-S. strasbourg convertie 15+

	Non saturé	Saturé par S. strasbourg originel	Saturé par S. senftenberg	Saturé par S. senftenberg + S. typhi V
Agglutinines	3, 15, 9, 46	15	15, 9, 46	15, 46
S. strasbourg	9.600	<50		3.200
S. strasbourg 15+	9.600	800		3.200
S. baildon *	9.600	<50		3.200
S. baildon 15+ *	9.600	1.600		3.200
S. anatum 3, 10	800.1600+	<50	<50	
S. newington 3, 15	1.600	800	400	400
S. canoga (3) (15) 34	800.1600+	200	400	400
S. senftenberg 1, 3, 19	800	<50	<50	
S. paratyphi B 1, 4, 5, 12	<50			
S. typhi murium 4, 12	<50			
S. typhi murium 1, 4, 12	<50			
S. typhi T_2 9, 12	1.600	<50	1.600	<50

* titres identiques obtenus avec S. plymouth originelle et convertie 15 +.

3 - Le facteur 9 est maintenu chez les bactéries converties (agglutination de la suspension de S. typhi.

4 - Le facteur 46 est maintenu chez les bactéries converties. En effet, les cultures originelles 15- restent agglutinées par le sérum anti-S. strasbourg converti 15+ saturé par S. senftenberg + S. typhi, sérum qui ne contient plus que les agglutinines 15 et 46;

5 - Il n'y a pas d'apparition du facteur 12 chez les cultures converties par le phage ε 15.

6 - S. strasbourg, S. baildon et S. plymouth converties ne sont plus agglutinées par le sérum 10 (tableau XV).

Deux stocks de phage furent préparés par passages sur S. strasbourg et S. baildon. Leur titrage fût impossible sur les souches originelles du sous-groupe D_2, les plages étant invisibles dans les conditions habituelles d'observation. Au contraire les plages sont faciles à dénombrer sur des cultures de sérotypes du groupe E_1 : S. uganda, S. butantan et surtout S. muenster. Titré sur cette dernière, le phage préparé sur S. strasbourg avait un titre de $1,6 \times 10^9$, celui sur S. baildon de 4×10^9.

Le sérum antiphage epsilon 15 originel (provenant de S. newington et préparé sur S. anatum) dilué à 1/50, fait baisser, après un contact de 10 minutes, le nombre de plages sur S. anatum de 685 à 56 (K= 12,4) et en 20 minutes à 12 (K= 10). Mis en présence du phage préparé sur S. baildon et titré sur S. muenster, il fait baisser à la même dilution, le nombre de plages de 312 à 52, en 10 minutes (K= 9) en 20 minutes à 8 (K = 9,2). La spécificité d'action est d'autre part commune : le phage préparé sur S. strasbourg a la même action lytique et convertissante sur les souches du groupe E_1 que le phage epsilon 15 originel. Ces deux groupes de résultats confirment donc que le phage préparé sur S. baildon, phage responsable de l'élaboration par cette souche en facteur 15, est bien le phage epsilon 15.

II - ACTION DU PHAGE EPSILON 34

Le phage epsilon 34 utilisé fut isolé de S. illinois ((3) (15)(34)) et préparé sur S. pankow (3, 15). Son titre sur cette souche est de $2,5 \times 10^9$.

Déposé sur des cultures en boîte de Petri des 7 souches du groupe D_2, il ne provoqua l'apparition d'aucune image de

lyse. Déposé sur les cultures converties 15+ de S. strasbourg, S. baildon, S. plymouth, il provoqua l'apparition d'une lyse voilée. Les cultures secondaires de S. baildon et S. plymouth étaient faiblement agglutinées sur lame par le sérum 34. Un premier passage sur S. baildon suffit à avoir une préparation plus active : les cultures secondaires de S. baildon et S. plymouth étaient fortement agglutinées par le sérum 34, celle de S. strasbourg partiellement. Un second passage sur S. baildon permit d'obtenir une préparation donnant des cultures secondaires des 3 souches fortement agglutinées par le sérum 34. Son titre était alors de $2,5 \times 10^9$ sur S. baildon 15+.

Les réisolements des cultures secondaires et les agglutinations sur lames de colonies isolées ont montré une ségrégation :

- S. baildon : 10 colonies 15- 34+++, 1 colonie 15+++ 34-
- S. strasbourg : 19 colonies 15- 34+++, 20 colonies 15+++ 34-
- S. plymouth : 6 colonies 15- 34+++, 2 colonies 15+++ 34-
  3 colonies 15± 34+++.

Les résultats des agglutinations en tubes des cultures 34+ des 3 sérotypes sont rapportés dans le tableau XVI. Ils montrent que l'apparition du facteur 34 amena une baisse sensible de l'agglutinabilité par les sérums contenant le facteur 3 et le facteur 15. On retrouve le même phénomène que celui qui a motivé la mise en parenthèses de ces facteurs dans les formules O des Salmonella du groupe E_3 : ((3)(15)34) Au contraire l'agglutinabilité des facteurs 9 et 46 n'est que peu changée bien que les titres d'agglutination dans les sérums correspondants soient presque constamment inférieurs d'une dilution quand apparaît le facteur 34.

Les rapports entre des facteurs 12_2 et 34 sont connus (KAUFFMANN 1961) S. strasbourg, S. plymouth, S. baildon qui étaient inagglutinables à l'origine par le sérum 12_2, inagglutinables aussi quand elles avaient acquis le facteur 15, sont devenues fortement agglutinables par ce sérum après avoir acquis le facteur 34.

S. fresno se comporte de manière particulière dans le groupe D_2 : elle est peu agglutinée par les sérums 3, 10 et 1, 3, 19, et est fortement agglutinée par les sérums 34 et 12_2. Elle est insensible à l'action des phages epsilon 15 et 34. Par ses caractères antigéniques O et par son insensibilité aux phages, elle se comporte donc comme une souche sauvage ayant subi une double conversion par les phages epsilon

15 et 34. Nous avons à plusieurs reprises essayé de confirmer cette hypothèse en tentant d'isoler le phage ε 34 de cultures irradiées aux UV de cette souche, et en déposant le surnageant sur 10 souches du groupe E_2, sauvages ou obtenues par conversion par le phage epsilon 15. Tous les essais furent infructueux. Cette souche serait donc lysogène défective.

A partir d'une colonie de S. plymouth et S. strasbourg fortement agglutinée par le sérum 34 , nous avons préparé une culture sur gélose pour immuniser des lapins, Les titrages et saturations ayant donné des résultats qualitativement identiques, comportant seulement des différences minimes dans les titres, nous ne rapporterons dans le tableau XVII que les résultats obtenus avec le sérum anti-S. strasbourg 15+ 34+. Ils confirment les résultats obtenus par agglutination des bactéries converties et rapportés dans le tableau XV :

L'acquisition des facteurs 15 et 34 est démontrée (2e et 3e colonne) ainsi que la conservation des facteurs 3 (1re colonne) 9 et 12_2 (cf tableau XV) et 46 (dernière colonne).

Deux résultats rapportés dans le tableau XVI étaient inattendus : S. senftenberg reste agglutinée (à des titres faibles) par le sérum anti-S. strasbourg 15+ 34+ saturé par S. strasbourg originel ou par S. strasbourg 15+ 34-, alors que S. anatum et S. london ne le sont plus. Ceci est vraisemblablement dû à une parenté entre les antigènes 0 de S. senftenberg et les facteurs 34 et 12_2. Les sérums saturés correspondant à ces derniers agglutinent en effet S. senftenberg.

D'autre part S. typhi T_2 (12_2-) reste agglutinée après saturation du sérum par S. typhi T 35/52 (12_2+). Or S. typhi T_2 n'est pas agglutinée par le sérum 46 préparé en saturant le sérum anti-S. strasbourg originel par S. enteritidis + S. london. Ceci laisserait donc supposer une modification du facteur 46 de S. strasbourg doublement convertie 15+ 34+ et une différence entre les facteurs 9 des deux souches de S. typhi.

Le phage convertisseur préparé sur S. baildon a gardé les propriétés originelles du phage epsilon 34 : il a conservé ses propriétés convertissantes pour les souches du groupe E_2 auxquelles il fait acquérir le facteur 34. Sa spécificité sérologique est, elle aussi inchangée : le sérum antiphage epsilon 34 (provenant de S. illinois et préparé sur S. pankow) a un

0 = < 50

TABLEAU XVII

Serum anti-S.strasbourg convertie 15+34+

	Avant saturation	Après saturation par				
		S.strasbourg originel	S.strasbourg 15+ 34-	S.senftenberg	S.senftenberg + S.typhi W	S.senftenberg + S. typhi W + S. canoga
Agglutinines	(3)(15)34,9,46,12_2	(15)34,12_2	34,12_2	(15)34,9,46,12_2	(15)46,34	46
S.strasbourg orig.	19.200	0	0	12.800	3.200	3.200
S.strasbourg 15+34-	19.200	400	0	12.800	3.200	3.200
S.strasbourg 15+34+	12.800	3.200	3.200	12.800	6.400	3.200
S.baildon orig.	12.800	0	0	12.800	3.200	3.200
S.baildon 15+34-	19.200	400	0	19.200	6.400	3.200
S.baildon 15+34+	19.200	3.200	3.200	19.200	6.400	3.200
S.plymouth orig.	19.200	0	0	19.200	6.400	6.400
S.plymouth 15+34-	19.200	800	0	19.200	6.400	6.400
S.plymouth 15+34+	19.200	3.200	3.200	19.200	6.400	3.200
S.fresno	19.200	3.200	3.200	19.200	6.400	6.400
S.london	800	0	0	0		
S.anatum	400	0	0	0		
S.newington	3.200	200	0	100	100	0
S.senftenberg	1.600	200	200	0		
S.canoga	12.800	3.200	1.600	1.600	1.600	0
S.typhi T 35/52 12_2+	12.800	3.200	1.600	12.800	0	
S.typhi T2 (12_2-)	6.400	0	0	1.600	400	200

coefficient d'inactivation identique quand on le titre vis à vis du phage originel et vis à vis du phage préparé sur S. baildon 15+.

Résumé et conclusion :

1 - Les Salmonella du sous-groupe D_2 possèdent le facteur 3 du groupe E.

2 - A l'exception de S. fresno, les souches étudiées (S. strasbourg, S. baildon, S. plymouth, S. haarlem, S. ouakam) sont sensibles au phage epsilon 15. La production du facteur 15 et la lysogénisation sous l'action de ce phage ont été démontrées pour S. strasbourg, S. plymouth , S. baildon.

3 - Le phage epsilon 34, inactif sur les souches originelles, est actif sur les souches converties 15+ et les lysogénise. La production du facteur 34 et la lysogénisation par ce phage ont été démontrées chez S. strasbourg, S. baildon, S. plymouth;

4 - Les souches rendues agglutinables par le sérum 34 deviennent agglutinables par le sérum 12_2.

5 - S. fresno, agglutinable par les sérums 12_2 et 34, se comporte une souche sauvage doublement convertie par les phages epsilon 15 et 34, lysogène défective.

6 - La conversion a ici un intérêt taxinomique évident : les sérotypes du sous-groupe D_2 se comportent comme ceux du sous-groupe E_1, à l'exception de S. fresno que l'on doit rapprocher des sérotypes du sous-groupe E_3. Cette dernière a pour formule (3)(15) 34, 9, 46, 12_2, les autres sérotypes ayant pour formule 3, 9, 46. Il est probable que l'on trouvera dans la nature des Salmonella sauvages converties par le phage epsilon 15, dont la formule sera 3, 15, 9, 46.

oOo

CHAPITRE VI

Nous rapporterons dans ce chapitre les échecs dans les essais de démonstration de corrélation entre la présence de certains facteurs antigéniques et un phage.

I - FACTEUR 5 DU GROUPE B.

Dans ce groupe, certains sérotypes tels que S. paratyphi B et S. typhi murium peuvent posséder le facteur 0 5 ou en être démuni. Nous avons recherché si la présence de ce facteur serait en corrélation avec celle d'un phage convertisseur. Tous les essais effectués pour isoler un tel phage ont donné un résultat négatif, même en employant les variantes 5+ et 5- de la même souche.

II - FACTEUR Vi.

Des essais identiques effectués en faisant agir sur les variantes Vi- des filtrats de cultures irradiées ou non de variantes Vi+ ont donné des résultats négatifs. Les cultures V et W utilisées furent les suivantes :

S. typhi T 415

S. typhi T 556

S. dublin 19/59 et 346/64

Citrobacter (ballerup) 7851 du Centre International de Copenhague.

E. coli Vi (en réalité Citrobacter) 2624/56 et 5396/38 du Centre International de Copenhague.

III - FACTEUR 12_2 DU GROUPE D.

La variante 12_2- de S. typhi couramment utilisée est la souche T_2 de ALMC et STOWAL (1939). Tous les essais pour isoler de souches sauvages 12_2+ de S. typhi un plage actif sur T_2 et susceptible de lui faire acquérir le facteur 12_2 ont échoué.

IV - FACTEUR 1,25 DU GROUPE H

Toutes les Salmonella de ce groupe possèdent en commun les facteurs 6, 14.

Certains sérotypes ont une formule antigénique 0:6, 14, 24, d'autres 1, 6, 14, 25. Le facteur 1 est toujours lié au facteur 25. Certains sérotypes possèdent par ailleurs les mêmes antigènes flagellaires, par exemple :

S. heves	6, 14, 24:d:1, 5
S. finkenwerder	1, 6, 14, 25:d:1, 5
S. lindern	6, 14, 24:d:enx
S. charity	1, 6, 14, 25:d:enx
S. bahrenfeld	6, 14, 24:en:1, 5
S. onderstepoort	1, 6, 14, 25:en:1, 5
S. carrau	6, 14, 24:y:1, 7
S. madelia	1, 6, 14, 25:y:1, 7
S. soahanina	6, 14, 24:z:enx
S. sundswall	1, 6, 14, 25:z:enx

Il est donc a priori possible que les facteurs 1, 25 soient encore ici liés à un phage tempéré qui transformerait la spécificité 24 en spécificité 1, 25.

Or de nombreux essais effectués sur des cultures d'âge différent, irradiées ou non, de 40 souches 1, 6, 14, 25 ne nous ont jamais permis d'isoler un phage convertisseur actif sur 16 souches 6, 14, 24 différentes.

Les cultures de S. onderstepoort (1, 6, 14, 25) contiennent un phage tempéré actif sur S. soahanina, S. lindern et S. heves (6, 14, 14). Seuls les passages sur S. heves permirent un enrichissement de ce phage qui devient alors actif sur S. bahrenfeld (6, 14, 24). Cinq passages successifs ont été faits sur ces deux souches mais le titre ne dépassa pas 2.10^6. Ces préparations donnent une lyse voilée sur les cultures de ces souches sur milieu gélosé. Mais les cultures secondaires restent inagglutinables, de même que 24 colonies réisolées de celles-ci, par les sérums 1 et 25. La méthode d'immunofluorescence a confirmé ce résultat négatif: ce phage est dénué d'action convertissante pour les facteurs 1 et 25.

Des passages en présence de sérum anti 1 ne nous ont pas

permis d'isoler à partir de cultures 1+ 25+ des colonies 1- 25-.

Enfin les phages convertisseurs pour le facteur 1 des sous-groupes A B D, G, R et T sont sans action sur les souches 6, 14, 24.

Tous nos essais avec les Salmonella de ce groupe se sont donc soldés par des échecs malgré le grand nombre de souches avec lesquelles nous avons travaillé.

V - GROUPE X :

Seize sérotypes appartiennent à ce groupe; Ils possèdent en commun le facteur 47 qui en est caractéristique. Un seul sérotype, S. luke, est décrit comme possédant le facteur 1. La seule souche de ce sérotype dont nous disposons est celle du Centre International des Salmonella de COPENHAGUE. Les contrôles de l'agglutinabilité de nos propres souches de ce groupe dans le sérum 1, 3, 19 ont montré que l'une d'elles, une souche de S. teshie provenant du Tchad, possédait le facteur 1.

Nous n'avons jamais pu mettre en évidence de phénomène de lyse en déposant des filtrats de cultures irradiées ou non de ces deux souches 1+ sur 8 souches 1- de 7 sérotypes différents. Douze passages des cultures 1+ en bouillon additionné de sérum 1, 3, 19 ne nous ont pas permis d'isoler de variantes 1- dont nous aurions pu rechercher la sensibilité à un phage éventuellement produit par la culture originelle 1+.

VI - GROUPES 42 et 54 :

Les sérums correspondant à ces deux antigènes coagglutinent fortement. Il existe donc des facteurs antigéniques communs de ces deux groupes, non mentionnés dans leur formule 0. Nous n'avons pas réussi à isoler de cultures de 10 sérotypes du groupe T (0:42) de phage actif sur S. uccle (0:54) et réciproquement.

Résumé :

Nous avons échoué dans les tentatives de démontrer la corrélation entre les facteurs antigéniques suivants èt un phage convertisseur :

Facteur 5 du groupe B

Facteur Vi du groupe D et des Citrobacter

Facteur 12_2 du groupe D

Facteur 1,25 du groupe H

Facteur 1 du groupe X

Facteur commun entre les groupes 42 et 54.

oOo

CHAPITRE VII

A - LYSOGENIE DES FORMES R.

Celle-ci a été étudiée pour répondre à deux questions.

1 - Les souches converties qui deviennent R, c'est-à-dire qui perdent totalement leur antigène 0, et entre autres les facteurs dont la présence est liée à celle du phage, restent-elles lysogènes ?

2 - Les variantes R sont-elles sensibles aux phages convertisseurs actifs sur les variantes S correspondantes ?

Des variantes R ont été isolées par la méthode suivante : des cultures en bouillon ont été abandonnées 2 semaines à l'étuve à 37° puis isolées sur gélose. Les colonies d'aspect R ont été réisolées et le caractère R confirmé par l'agglutinabilité dans l'eau physiologique. Avec la variante R de S. poona 2/60 et S. friedenau nous avons immunisé des lapins : l'absence de réponse en agglutinines 0 permet d'affirmer la perte de l'antigène O.

Les expériences ont été effectuées avec des Salmonella du groupe G :

- souches converties 1+ 37+ S. friedenau, S. poona Copenhague 2/60 et 1/62,

- souches sauvages 1-37- : S. poona Copenhague, et 1/57 S. braknell, S. demerara, S. roodepoort, S. bahati, S. agbeni, S. idikan, S. natal.

L'action des surnageants de cultures en bouillon tués par le chloroforme a été recherchée en déposant une goutte de ceux-ci sur les boîtes de Pétri ensemencées en nappes par les souches S 1- 37- et par leurs variantes R.

Les résultats furent les suivants :

1 - les surnageants des cultures des variantes R provenant de cultures 1+ 37+ contiennent, comme celles des variantes S originelles, des phages convertisseurs actifs sur les variantes S des cultures 1- 37-.

Le caractère lysogène n'est donc pas perdu quand l'antigène 0 a disparu.

2 - Les variantes R des souches 1- 37- sont insensibles à l'action des phages convertisseurs élaborés par des cultures S 1+ 37+ ou par les variantes R de celles-ci. Tout se passe donc comme si la disparition de l'antigène 0 entraînait la disparition du récepteur pour le phage.

B - CARACTERES DES PHAGES CONVERTISSEURS ISOLES

MORPHOLOGIE :

Les bactériophages 27, 1.37, 1 (40), $1,42_2$ ont été examinés au microscope électronique en "coloration négative" et leur morphologie a été comparée avec celle des autres phages epsilon 34 et PLT 22.

Les bactériophages ont été purifiés par plusieurs cycles de centrifugations à grande et faible vitesse. Après une dernière centrifugation à 110.000 G dans une ultracentrigugeuse Spinco, modèle L, les culots de bactériophages ont été resuspendus dans l'une ou l'autre des deux solutions suivantes :

1 - Acétate d'ammonium 1% + Acide phosphotungstique 1% + saccharose 0,2 % pH : 7,2.

2 - Acide phosphotungstique 1% + saccharose 0,2 % pH : 7.2- Une microgoutte de chacune de ces préparations a été déposée sur les grilles porte-objet et après dessication, les bactériophages ont été examinés en coloration négative sur un Elmiskop Siemens E.M. 100 - Ces examens ont été effectués dans le Service des Virus de l'Institut Pasteur par J.F. VIEU, 0. CROISSANT et C. DAUGUET (1964).

Dans ces conditions on a pu constater que la morphologie de ces quatre bactériophages est analogue, sinon identique, à celle du phage PLT_{22} et qu'elle présente une uniformité remarquable - En effet, les bactériophages 27, $1,37_1(40)$ et $1,42_2$ sont caractérisés par l'absence de queue à manchon protéique contractile et par son remplacement par un appendice de fixation ayant une structure très différente. La tête, dont le contour est assez

régulièrement hexagonal, a une forme polyedrique et une taille d'environ 600 Å . L'appendice de fixation attaché à un des sommets de la tête , est une courte queue comportant un axe central (70 Å de long) auquel est attaché la plaque terminale ; celle-ci, d'environ 200 Å de large et 35 Å d'épaisseur, supporte 6 prolongements courts (70 Å de long sur 35 Å de large).

Cette morphologie est exactement celle qui a déjà été décrite par ANDERSON (1960) chez le phage PLT_{22} étudié en coloration négative et on la retrouve chez le bactériophage Epsilon 34.

Ainsi les bactériophages PLT_{22} , Epsilon 15 et 34, 27, 1,37 1(40), $1,42_2$, 6,14(18) et 14(6,7) peuvent être tous rangés dans le groupe III de la classification morphologique des virus bactéries proposée par BRADLEY et KAY (1960) et par KAY (1963). Ce groupe réunit plusieurs bactériophages (Coliphages, Brucellophages, Actinophages, bactériophages des Pseudomonas) caractérisés par une tête polyédrique à contour hexagonal et une très courte queue, sans manchon protéique contractile décelable et dont la structure fine permet de distinguer entre eux plusieurs variétés. Précisons que ces 6 bactériophages se rangent tous dans la même variété de ce groupe morphologique en raison de la structure uniforme de leur courte queue. Il serait intéressant qu'en raison de l'homogénéité morphologique de tous ces phages les spécialistes des Brucella et Pseudomonas recherchent si les phages provenant de ces bactéries ne sont pas des phages convertisseurs.

C - CARACTERES DES PHAGES CONVERTISSEURS ISOLES

Les temps de latence et la production moyenne des phages par bactérie ont été étudiés avec les systèmes suivants, par la méthode du cycle unique.

- phage 27 - S. haffa
- phage 1,37 - S. durham
- phage 1(40) - S. johannesburg J 5/58
- phage $1,42_2$ - S. weslaco
- phage 6,14(18) - S. cerro

Phages	Temps de latence	Phages par bactéries
27	45 minutes	130
1,37	70 minutes	135
1,(40)	40 minutes	100
$1,42_2$	45 minutes	400
6,7(14)	35 minutes	380

C - CARACTERES TRANSMISSIBLES PAR LES PHAGES CONVERTISSEURS.

I - SPECIFICITES ANTIGENIQUES FLAGELLAIRES :

La transduction fût recherchée par culture en gélose molle répartie en tubes en U, additionnée d'une part de sérums anti H correspondant à la spécificité des antigènes flagellaires de la souche réceptrice, d'autre part de bactériophages. Les bactéries de la souche réceptrice sont ainsi immobilisées tant que leurs antigènes H ne sont pas modifiés. Seules seront mobiles, migrant d'une extrémité à l'autre de la gélose du tube en U, les bactéries ayant reçu par transduction une nouvelle spécificité de leurs antigènes H, provenant de la souche donatrice.

Les essais de transduction ont été effectués avec les six bactériophages convertisseurs que nous avons isolés :

a - Phage 27 :

- préparé sur S. paratyphi B 60.1917 (1,4,5,12:b:1,2) et mis en contact de :

  S. abortus equi + sérum enx
  S. paratyphi A 1015 + sérum a
  S. paratyphi A variété durazzo + sérum a

- préparé sur S. paratyphi A variété durazzo (2,12:a:-) et mis en contact de :

  S. abortus equi + sérum enx
  S. typhi murium SL 375 + sérums i et 1,2

- préparé sur S. haffa (1, 4, 5, 12:z_{10}:1, 2) et mis en contact de

  S. abortus equi + sérum enx

- préparé sur S. typhi (9, 12:d) et mis en contact de

  S. abortus equi + sérum enx
  S. typhi murium SL 375 + sérums i et 1, 2

- préparé sur S. schwarzengrund 4/59 (1, 4, 5, 12:d:1, 7) et mis en contact de

  S. paratyphi B + sérums b et 1, 2

Les cultures de S. paratyphi A 1015 et var. durazzo essaimèrent rapidement en gélose molle. Les bactéries étaient devenues agglutinables à la fois par les sérums b et 27. Les formules antigéniques 1, 2, 12:a et 2, 12:a ont été respectivement changées en 1, 2:12, 27:b et 2, 12, 27;b correspondant à des hybrides non signalées à l'état sauvage. Ces bactéries sont insensibles à l'action du phage 27. Cultivées en gélose molle additionnée de sérum b, elles sont immobilisées. Leur antigène H est donc monophasique.

En résumé les modifications obtenues de formules antigéniques furent :

1, 2, 12:a:- ⟶ 1, 2, 12, 27:a:-

2, 12:a:- ⟶ 2, 12, 27:a:-

b - Phage 1, 37 :

Préparé sur S. durham 1/57 (13, 23, 36:b:enz$_{15}$). Son action transductrice fût recherchée sur :

S. poona + sérums z et 1, 6

S. friedenau + sérums d et 1, 6

S. clifton + sérums z_{29} et 1, 5

S. congo + sérum gt

S. fanti + sérum z_{38}

S. ajiobo + sérum z_4 z_{23}

S. grumpensis + sérums d et 1, 7

Les cultures de S. clifton, S. fanti et S. grumpensis envahirent la gélose molle. Une dissociation intéressante des phénomènes de transduction et de conversion fût observée avec S. clifton dont la formule antigénique initiale était 13,22,36:z_{29}:1,5 : la culture en gélose repiquée du tube de gélose molle était agglutinable par le sérum b (caractère transduit de la souche donatrice) inagglutinable par les sérums en z_{15}, z_{29} et 1,5. Cultivée en gélose molle additionnée de sérum b elle devint agglutinable par le sérum 1,5 : son antigène H est donc resté diphasique, la spécificité b ayant été substituée à la spécificité z_{29}. Elle est restée inagglutinable par les sérums 1 et 37, et sensible au phage 1,37, c'est à dire transduite mais non convertie. En faisant agir dans un 2e temps le phage 1,37 sur cette culture transduite, la conversion fût obtenue. La formule antigénique devient ainsi 1,13,22,36,37:b:1,5, correspondant à un nouveau sérotype.

Les étapes furent donc :

13,23 36:z_{29}:1,5 ⟶ 13,23,36,b:1,5 ⟶ 1,13,23 36,37:b:1,5

La même observation fût faite avec S.fanti. Dans un premier temps cette souche fût transduite pour le caractère H:b. L'antigène H était dans ce cas encore monophasique, (la culture étant immobilisée en présence de sérum b). Mais les antigènes 0 et la sensibilité au phage 1,37 n'étaient pas modifiés dans cette culture. En faisant agir à nouveau le phage 1,37 sur la culture transduite ensemencée en nappe sur boîte de Pétri, il fût possible de la rendre agglutinable par les sérums 1,37. La formule de cette culture était donc devenue 1,13,23,36,37:b:-, qui correspondait à une variante monophasique de S. mississipi.

S. grumpensis (13, 23,36:d:1, 7) fût d'emblée transduite pour le facteur b et convertie. La nouvelle souche dont l'antigène H est resté diphasique , a pour formule 1,13,23,36,37:b:1,7, correspondant à un sérotype nouveau.

Les modifications de formules antigéniques obtenues furent donc :

- 13,23,36:z_{38}:-(S.fanti)⟶13,23,36:b(S.atlanta)⟶ 1,13,23,36,37:b(S.mississipi ph.1)

- 13,23,36:d:1,7 (S.grumpensis)⟶1,13,23,36,37:b:1,7 (sérotype nouveau)

c - Phage 1,(40) : préparé sur S. johannesburg 5/58 (40:b:enx). Son action transductrice fût recherchée sur :

S. shikmonah + sérums a et 1,5

S. greiz + sérums a et z_6

S. nowaves + sérums z et z_6

S. riogrande + sérums b et 1,5

S. karamoja + sérums z_{41} et 1,2

S. boksburg + sérums gms,enx et en z_{15}
(antigènes H : gs:enx z_{15})

S. degania + sérums z_4 z_{24}

S. omifisan + sérum z_{29}

S. shikmonah essaima dans la gélose molle. La culture mobile repiquée sur gélose fût agglutinable par le sérum b , inagglutinable par les sérums en, a et 1,5 de même que par le sérum 0:1. La culture en présence de sérum b permit de retrouver la phase 2 (1,5). La culture fût donc transduite pour le facteur b , et resta diphasique Sa formule correspondait à celle de S. riogrande. Elle n'était pas convertie. Elle pût l'être en faisant agir à nouveau le phage 1 (40).

d - Phage 1.42 : préparé sur S. weslaco (42:z_{36}:-). Le phage permit de transduire et de convertir simultanément toutes les souches sur lesquelles son action fût recherchée.

S. nairobi 1/60 : la formule 42 :r devint 1,42:z_{36}. La culture est immobilisée en présence de sérum z_{36}: l'antigène H est resté monophasique.

S. uphill 6/58 et 7/59. La formule 42:b:enx:z_{15} devint 1,42:z_{36}, enxz_{15} diphasique : elle n'était au départ agglutinable que par le sérum z_{36} . Cultivée en gélose molle en présence de sérum correspondant à cet antigène, elle devint agglutinable par les sérums en , x et z_{15}. Cultivée à nouveau en présence de ce sérum, elle redevint agglutinable par le sérum z_{36}.

S. rand Cop. la formule 42:z:enxz_{15} devint 1,42:z_{36}: enxz_{15}. Les résultats des agglutinations et des inversions de phage en présence des anticorps H furent les mêmes qu'avec les 3 souches de S. uphill.

La résistance au phage $1,42_2$ fût confirmée avec toutes ces souches transduites et converties.

Les modifications de formules antigéniques obtenues furent donc :

- 42:r:(S. nairobi) → 1, 42:z_{36} (S. weslaco) convertie

- 42:b:enxz$_{15}$(S. uphill) → 1, 42:z:36:enxz$_{15}$ (sérotype nouveau)

- 42:z:enxz$_{15}$(S. rand) → 1, 42:z_{36}:enxz$_{15}$(sérotype nouveau, le même qu'en partant de S. uphill)

e - Phage 6, 14(18) préparé sur S. cerro (18:z_4, z_{23}). Ce phage, ajouté à une gélose molle en tubes en U contenant du sérum z_{36} et ensemencée par S. beloha (H.z_{36}) permet la migration. La culture n'est plus agglutinable par le sérum z_{36}, mais elle possède la spécificité antigénique H de la souche donatrice (z_4, z_{23}). Comme cette culture est par ailleurs convertie, elle a la formule de S. siegburg (6, 14, 18:z_4, z_{23}). La modification de formule antigénique obtenue fut 18:z_{36}(S. beloha) → 6, 14, 18:z_4, z_{23}(S. siegburg)

f - Phage 14 (6, 7): préparé sur S. lille. Ce phage peut transférer la spécificité H(z_{38})de la souche donatrice à des sérotypes du sous-groupe C_1 (S. denver, S. brazzaville, S. kotte).

2 - RESISTANCE A LA STREPTOMYCINE

La transmission éventuelle de ce caractère par les phages convertisseurs fut recherchée avec les systèmes suivants :

S. typhi murium LT_2 + phage PLT_{22}

S. bredeney B 15/60 + phage 27

S. durham Cop. + phage 1,37

S. johannesburg 5/38 + phage 1(40)

S. weslaco Cop + phage 1, 42_2

Les souches convertibles ont été rendues résistantes à 400γ de streptomcyine et des préparations de phage "S^r" ont été faites par passages successifs sur ces souches en présence de streptomycine, à l'exception du dernier passage effectué sur milieu sans antibiotique. Les titrages effectués sur les souches streptomycino-résistantes ont donné les résultats suivants :

Phage PLT_{22}	"S^r"	$3,5.10^9$
Phage 27	"S^r"	4.10^9
Phage 1,37	"S^r"	7.10^9
Phage 1 (40)	"S^r"	2.10^9
Phage $1,42_2$	"S^r"	$1,9.10^9$

Des cultures en bouillon, agitées, en phase exponentielle, de cultures convertibles streptomycino-sensibles ont été réparties sous volume égal dans deux tubes et additionnées d'une part de phages préparés sur les souches "S^r" d'autre part de phage préparés sur des souches "S^r" avec une multiplicité d'infection de 100 phages par bactérie. .

Après quatre heures d'incubation, 0,2 ml de la culture + phage "S^r" non diluée et diluée à 10^{-2}, 10^{-4}, 10^{-6}, ont été étalés sur gélose additionnée de 100 γ de streptomycine, de même que 0,2 ml de la culture non diluée + phage "S^r". Les dilutions à 10^{-6} des deux cultures ont d'autre part été étalées sur gélose ordinaire pour dénombrer les bactéries totales.

Avec S. durham, aucune colonie streptomycino-résistante ne fût obtenue dans les deux cultures ; avec S. bredeney et S. typhi murium LT_2 , des proportions analogues de colonies "S^r" furent obtenues à partir des deux tubes, c'est-à-dire, avec une fréquence de 10^{-6} pour le premier sérotype, 10^{-7} pour le second. Il s'agit donc ici de mutants spontanés et non de bactéries transduites.

Avec S. johannesburg, seul le tube + phage S^r permit d'obtenir des colonies S^r . Le caractère S^r fût transduit à la fréquence de $3,2 \times 10^{-7}$. Il en fût de même avec S. weslaco mais avec une fréquence plus élevée : 10^{-6}.

Aucune différence significative ne pût être observée entre les nombres de bactéries viables dans les 2 tubes de chaque souche.

La streptomycino-résistance peut donc être transduite par les phages convertisseurs 1(40) et $1,42_2$.

Conclusion .

Les six phages convertisseurs qui font l'objet de ce travail peuvent être tranducteurs. La transduction de la

spécificité H de la souche donatrice fût démontrée pour tous, celle de la streptomycine-résistance pour deux d'entre eux.

Les deux actions d'un même phage peuvent être dissociées: sans agent sélecteur, la conversion seule est aisée à obtenir. En présence d'agent sélecteur tels que les anticorps H on ne recueille que les bactéries transduites. Lors des repiquages de ces cultures, il se produit une ségrégation entre les bactéries converties et celles ayant perdu le génome phagique. Celles-ci n'élaborent pas l'antigène 0 dont la présence est en corrélation avec celle du phage. Elles sont uniquement transduites et peuvent, quand dans un 2e temps on on les remet en présence du phage, devenir transduites et converties. Les souches monophasiques transduites (telles les S. paratyphi A, S. fanti et S. nairobi) sont restées monophasiques. Les souches diphasiques originellement restent diphasiques (S. uphill, S. rand, S. clifton, S. grumpensis. S. shikmonah).

3 - VIRULENCE POUR LA SOURIS .

Deux souches de S. typhi murium furent utilisées : S. typhi murium mutator 119 dont la DL_{50} par voie intrapéritonéale est de 50 bactéries et un recombinant de cette souche avec E. coli Hfr 3.300. Cette dernière est avirulente (DL_{50} supérieure à 10.000). Ces deux souches sont S, possèdent les facteurs 4, 5 12. La constitution de leurs agglutinogènes 0 est identique puisque les saturations croisées d'immunsérums de lapins sont totales. Le caractère "virulence" ne peut donc être dû à l'un des facteurs antigéniques 0 4, 5 ou 12. La structure des antigènes H est , elle aussi, identique.

Nous avons recherché :

1 - si la virulence serait modifiée en faisant acquérir à ces souches le facteur 1 au moyen du phage PLT_{22} ;

2 - si le phage passé sur S. typhi muirum mutator virulent ferait acquérir le caractère "virulence" à S. typhi murium recombinant quand il la convertit.

3 - si, inversement, le phage passé sur S. typhi murium recombinant ferait perdre la virulence de S. typhi murium mutator quand il la convertit.

Les préparations de phage PLT_{22} sur S. typhi murium mutator et S. typhi mutium recombinant avaient des titres satisfaisants, respectivement 5.10^9 et 10^{10}, c'est à dire, analogues à la préparation originelle effectuée sur S. typhi murium LT_2.

Les cultures sur gélose âgées de 16 heures ont été récoltées en eau physiologique, titrées au photomètre et injectées par voie intrapéritonéale à des lots de 10 souris sous le volume de 0,5 ml aux doses de 100 - 1000 - 10.000 bactéries. Les titrages au photomètre ont été contrôlés par numération de bactéries vivantes. Les animaux ont été observés durant 21 jours. Les souris mortes ont été autopsiées et la nature des bactéries isolées d'hémocultures contrôlées par agglutination sur lames et recherche de la fermentation du lactose, les S. typhi murium recombinants étant lactose + contrairement aux S. typhi murium mutator qui sont lactose - .

Résultats :

Les trois cultures de S. typhi murium mutator, qu'elles soient 1- ou 1+, sont virulentes. Les trois cultures de S. typhi murium recombinant, qu'elles soient 1- ou 1+, sont dénuées de virulence. Les DL_{50} n'ont pas été modifiées par la conversion. L'addition du facteur 1 ne modifie donc pas le pouvoir pathogène, que le phage convertisseur ait été préparé sur une culture virulente ou non virulente de Salmonella typhi murium . La conversion bactériophagique n'est donc pas une méthode utilisable pour transmettre les caractères "virulence" ou "avirulence" d'une souche à une autre comme l'est la recombinaison employée par Krishnapillai et Baron (1964).

D - ETUDE IN VIVO DES ANTICORPS OPSONISANTS CORRESPONDANT AUX ANTIGENES CONVERTIS.

L'étude de l'effet opsonisant des anticorps sur la phagocytose des Salmonella par les cellules du système réticulo-endothélial a été faite chez la souris en étudiant l'épuration du courant sanguin de bactéries marquées à l'iode radioactif (BIOZZI, STIFFEL, LE MINOR et BOUTHILLIER, 1963).

Les souches utilisées furent d'une part deux variantes de S. typhi murium ayant les facteurs 0 4, 12 et 4, 5, 12, d'autre part S. abortus equi (4, 12) et S. reading (4, 12). Les deux premières furent converties pour le facteur 1, les deux dernières pour le facteur 27.

TABLEAU XVIII

	Sérum anti 0:1		Sérum anti 0:27 S. abortus equi		Sérum anti 0:27 S. reading	
	Agglutinines	Opsonines	Agglutinines	Opsonines	Agglutinines	Opsonines
S. typhi murium 34/59 4, 5, 12	0	0				
S.t:m. 34/59 convertie 1, 4, 5, 12	800	32.000				
S.t:m. 34 bis/59 4, 12	0	0				
S.t.m. 34 bis/59 convertie 1, 4, 12	1600	79.000				
S.t.m. SL 375 4, 12			0	100	0	40
S.t.m. SL 375 convertie 4, 12, 27			800	3300	800	3600

Les sérums anti 0 1 sont un titre en unités opsonisantes par ml de 0 sur les souches de S. typhi murium dépourvues de cet antigène. Il est respectivement de 33.000 et de 79.000 sur les souches converties par le phage PLT_{22}.

Le sérum anti 27 préparé avec S. abortus equi converti 27+ a un titre de 100 vis à vis de la souche 27- de S. typhi murium, de 3.300 sur la souche convertie 27 +, le sérum anti 27 préparé avec S. reading des titres respectifs de 40 et 3.600.

Ces résultats confirment que la spécificité des anticorps opsonisants est identique à celle des agglutinines. Les faibles titres d'opsonines observés avec les souches 27- sont dus vraisemblablement à la présence d'anticorps naturels.

Le titrage de opsonines par cette méthode est plus sensible que le titrage des agglutinines. Il n'y a pas de parallélisme entre les titres obtenus par ces deux méthodes sérologiques.

E - ACTION "GUERISSANTE" DES SERUMS ANTIPHAGES

Les souches converties suivantes :

S. typhi murium L T_2	1+
S. durham	1+ 37+
S. johannesburg	1+
S. weslaco	1+
S. bredeney	B 15/60 27+

ont été ensemencées dans deux tubes de bouillon, l'un servant de témoin et l'autre additionné de sérum antiphage à concentration inhibitrice d'au moins 90 %. L'inoculum fût très faible : 100 bactéries/ml. Après un séjour de 8 heures au bain-marie à 37 ° les cultures ont été isolées sur gélose ordinaire en boites de Pétri. L'agglutinabilité de 10 colonies de chaque boite a été recherchée dans le sérum correspondant au facteur converti. Nous rapporterons d'abord le pourcentage de colonies converties dans la culture témoin, puis celui dans la culture additionnées de sérum antiphage.

S. typhi murium L T_2	8/10	7/10
S. durham	10/10	10/10
S. johannesburg	10/10	10/10
S. weslaco	9/10	9/10
S. haffa	10/10	10/10

Le sérum antiphage n'a donc pas d'action significative. Il ne peut évidemment agir sur les prophages. Mais si au cours de la multiplication des bactéries, une forte proportion d'entre elles perdaient leur prophage, redevenant donc sensibles au phage, on aurait pu s'attendre à une action des anticorps, qui, neutralisant les phages libres, auraient empêché la réinfection.

Nous ne pouvons donc confirmer, avec les 5 phages convertisseurs que nous avons utilisés dans cette expérience, les résultats publiés par YAMATA et SAKAZAKI (1951) qui utilisaient le sérum antiphage epsilon 15 pour favoriser la réversion 3, 15 → 3, 10.

F - CONVERSIONS IN VIVO

Deux souris ont reçu par tubage gastrique 50×10^6 S. maricopa sauvage 1+ streptomycino-sensible. Quatre autres ont reçu, de la même façon, S. weslaco 1- streptomycino-résistant.

Ces coprocultures faites pendant 3 jours ont permis de constater l'implantation de ces Salmonella et de confirmer que S. maricopa ne pouvait cultiver sur milieu SS additionné de 100 γ de streptomycine.

Le 4e jour, à deux des souris ayant reçu S. weslaco 1- S^r nous avons administré, par tubage, 50×10^6 S. maricopa 1+ S^s. Les coprocultures sur milieu SS additionné de 100 γ de streptomycine permettaient de sélectionner S. weslaco. Les coprocultures du Ier et du 2e jour furent négatives. A partir du 3e jour, nous avons retrouvé des colonies de Salmonella de formule 1, 42 : z_{36}, c'est à dire, des S. weslaco converties 1+. Celles-ci ne peuvent être des mutants de S. maricopa streptomycino-résistant pour deux raisons : les colonies ayant cette formule étaient nombreuses, les antigènes H de S. maricopa sont g (p) z_{51} : 1, 5. Une transduction est aussi à éliminer car elle porterait sur deux caractères simultanément, dont une disparition de deux spécificités flagellaires remplacées par z_{36} en l'absence de sérum anti H jouant le rôle de l'agent sélecteur.

Des phénomènes de conversion peuvent donc se produire in vivo chez un animal hébergeant une Salmonella lysogène et une autre Salmonella sensible au phage tempéré libéré par la première.

oOo

DISCUSSION

Deux groupes de phénomène sont actuellement décrits sous la dénomination de "conversion bactériophagique" : d'une part la production de toxine diphtérique ou de toxine érythrogène des streptocoques par les cultures de bactéries lysogénisées, d'autre part, l'élaboration par des Salmonella hébergeant le génome de certains bactériophages de facteurs antigéniques O particuliers. Ces deux phénomènes devraient être dissociés bien que tous deux nécessitent l'intervention de bactériophages.

1 - Les toxines ne sont pas décelables en quantités appréciables quand les bactéries se multiplient en phase logarithmique. Les tentatives pour extraire la toxine par broyage de ces bactéries donnent un résultat négatif (BARKSDALE 1959 - ZABRISKIE 1964).

2 - La toxine n'est produite que pendant la phase de "déclin de la culture". A ce stade, la morphologie des bactéries se modifie , on trouve des fragments gram négatifs. Il est donc logique de conclure que la toxine est produite lors de la mort des cellules, la quantité de toxine étant inversement proportionnelle à celle des bactéries viables (BARKSDALE).

3 - La quantité de toxine est proportionnelle à la quantité de phages titrés dans la culture (ZABRISKIE).

4 - Le rôle de la déficience en fer du milieu sur la production de toxine diphtérique est considérée par BARKSDALE comme une induction de la lysogénie de C. diphtheriae. Cet effet est nettement augmenté si l'on irradie la culture par les rayons ultra-violets. La production de toxine requiert donc la multiplication du phage.

Au contraire, dans la conversion lysogénique des Salmonella l'apparition du facteur néoformé est très rapide (8 à 10 minutes après la fixation du phage sur les bactéries). Le facteur antigénique est élaboré par la bactérie contenant le génome phagique. Le phage est la plupart du temps à l'état de prophage, les bactéries converties sont viables et ne subiront la lyse que dans une faible proportion.

Dans le cas des toxines diphtérique et érythrogène ces produits sont élaborés par les bactéries seulement dans la phase terminale du cycle des bactériophages et libérés lors de la lyse. Il s'agit dans ce cas d'une synthèse des protéines allant de pair avec celle des phages murs, d'un épiphénomène qui serait vraisemblablement passé longtemps inaperçu si ces protéines n'étaient toxiques pour l'homme. Dans le cas des Salmonella, au contraire, les phages interviennent dans la synthèse de polyosides déterminant la spécificité du facteur 0, ceci sans altérer la vitalité des bactéries.

Il nous semble en conséquence que le terme de "conversion bactériophagique" devrait être réservé uniquement aux modifications de structure d'une bactérie sous l'influence du génome phagique, ceci indépendamment du sort ultérieur de cette bactérie, qui dans la majorité des cas, sera viable et perpétuera le caractère tant qu'elle hébergera le génome phagique. Il faudrait adopter un nouveau terme pour désigner la "toxinogénèse liée à la lyse par un bactériophage".

La conversion bactériophagique chez les Salmonella offre un matériel intéressant pour des recherches portant sur l'interaction entre virus et cellule-hôte. Les agglutinogènes sont faciles à mettre en évidence, leur étude sérologique aisée à effectuér avec une précision qui est rare chez les microorganismes. Ils sont un matériel de choix pour les biochimistes car sous l'influence des phages convertisseurs on peut induire l'élaboration par les cellules d'un nouveau facteur et l'étude simultanée de la culture d'origine et de la culture convertie rend beaucoup plus aisées les comparaisons. Les travaux de STOCKER et coll. (1960), de ROBBINS et UCHIDA (1962), de STAUB et coll. (1961-1963) sont des exemples des recherches que l'on peut effectuer avec de tels systèmes, recherches qui nous permettront de mieux comprendre dans les années à venir les déterminants des spécificités 0. Ils ont montré que les modifications des spécificités sérologiques qui interviennent sous l'influence du phage sont dues à des modifications chimiques au niveau de la biosynthèse des oligosides :

1 - dans la modification **3, 10 ⟶ 3, 15** il se produit une inhibition de l'acétyltransférase et une isomérisation du galactose terminal de α en β (UCHIDA, ROBBINS et LURIA 1963) : il y a simultanément inhibition d'un enzyme,

l'acétyltransférase, et expression d'un autre enzyme, une isomérase.

2 - dans la modification 3, 15 ⟶ 3, 15, 34 le phage epsilon 34 induit l'expression d'un enzyme capable de fixer un α glucose sur le β-galactoside. Ceci permet de comprendre pourquoi le phage epsilon 34 ne peut faire apparaître ce facteur chez les souches 3, 10 : la place où peut se fixer le glucose est occupée par le radical acétyl et, d'autre part le galactose sur lequel sera fixé ce glucose doit être la forme β et non α comme dans l'antigène 10. Il faut donc que le facteur 10 soit transformé en 15 avant que la spécificité 34 puisse s'exprimer.

3 - dans la conversion 4, 12 ⟶ 1.4, 12 par le phage PLT_{22}, celui-ci induit l'expression d'un enzyme capable de fixer un α glucose en 1.4 sur l'α-galactose terminal de la chaîne galactose - mannose - rhamnose (STAUB, 1961).

4 - la spécificité 27 proviendrait d'une modification du facteur 4 par un changement dans la liaison interne : mannose - rhamnose (STAUB et FOREST, 1963).

Actuellement nous en sommes réduits aux hypothèses sur les le mode d'action des phages dans ces conversions : élaboration d'enzymes nouveaux, possibilité d'expression d'enzymes préexistants par dérépression quand un nouveau facteur apparaît (divers facteurs 1, facteurs 27, 34, 1.37) 6, 14 (groupe K) 14 (groupe C), suppression d'un enzyme ou de son activité (transformation 3, 10 en 3, 15) ou compétition entre 2 enzymes -(substitution du galactose α en galactose β).

La mise en évidence de possibilités de conversions diverses chez les Salmonella peut donc présenter un matériel précieux pour l'enzymologiste et le généticien.

Pour le taxinomiste des Enterobactéries, la conversion lysogénique a apporté une notion toute nouvelle : la présence de certains facteurs 0 est liée à la présence d'un phage. Ces facteurs ne sont élaborés par la bactérie que lorsqu'elle est contaminée par un phage, et ces facteurs apparaissent très rapidement, une dizaine de minutes après que le phage s'est fixé sur la bactérie.

Le schéma de KAUFFMANN qui n'est pas une liste de tous les facteurs antigéniques connus, mais uniquement de ceux dont la détermination est importante dans le diagnostic, comprend 900 sérotypes. On sait depuis longtemps que certains facteurs, 01 par exemple, peuvent ne pas exister chez certaines souches d'un sérotype donné qui habituellement le possèdent. Certaines variétés avaient été dénommées sur cette base, par exemple S. paratyphi A variété

durazzo . Or, nous avons vu que la présence de ce facteur 0 est en corrélation avec un phage. D'autres facteurs, tel 37, ne sont pas mentionnés dans le groupe G, contrairement au facteur 1. Or ce facteur 37 est lié au facteur 1 et peut être acquis par lysogénisation par le phage que nous avons dénommé (1,37). Dans le groupe R et T les facteurs 1, dont la présence est indiquée dans le schéma de KAUFFMANN-WHITE uniquement chez certains sérotypes, peuvent être acquis par d'autres sérotypes du même groupe sous l'influence des phages 1 (40) et $1,42_2$. Il en est de même pour le facteur 27 du groupe B. Et nous avons vu que le phage convertisseur pour ce facteur peut même le faire acquérir à des sérotypes des groupes A, B, et D chez lesquels il n'a jamais été rencontré à l'état sauvage. Les souches ayant acquis une nouvelle formule correspondraient à de nouveaux sérotypes. Les changements des antigènes 3,10 en 3,15 obtenus par les auteurs japonais sont particulièrement démonstratifs à cet égard.

Nos propres observations effectuées avec les Salmonella du sous-groupe D_2 viennent renforcer tout l'intérêt taxinomique des recherches sur la conversion : si les sérotypes de ce sous-groupe possèdent le facteur 9, considéré comme caractéristique du groupe D, ils possèdent aussi le facteur 3, considéré comme caractéristique du groupe E.

Or ces cultures sont convertibles par le phage epsilon 15, puis par le phage epsilon 34 qui leur fait acquérir successivement les facteurs 15 et 34. Elles se comportent donc exactement comme les souches du sous-groupe E_1 (3,10), convertibles en 3,15 puis 3,15,34. Un sérotype du sous-groupe D_2, S. fresno, comportait dans sa formule du schéma de KAUFFMANN-WHITE le facteur 12. Or l'analyse antigénique nous a montré qu'elle possédait aussi les facteurs 15 et 34, c'est-à-dire, une formule 0 identique à celle obtenue par double conversion. La lysogénisation par le phage epsilon 34 a aussi montré que les facteurs 12_2 et 34 apparaissent simultanément, comme les facteurs 1 et 37, 1 et 42_2.

Afin d'éviter que deux noms de sérotypes désignent dans le schéma de KAUFFMANN-WHITE l'un la variante non lysogénisée (ex. S. cerro), l'autre la variante lysogénisée (S. siegburg) il nous paraît souhaitable d'écrire désormais en italique les facteurs dont la présence est liée à celle d'un génome phagique.

Les phages qui peuvent intervenir de manière apparemment directe dans l'élaboration de certains facteurs 0 des Salmonella peuvent aussi intervenir de manière indirecte dans la spécificité des antigènes flagellaires en apportant à la souche réceptrice des gênes déterminant la spécificité H de la souche donatrice. La transduction des antigènes H permet, en utilisant les antisérum comme agents sélecteurs, de modifier les spécificités H et de "créer" de nouveaux sérotypes que certains veulent appeler des "espèces."

Les résultats obtenus lors des recherches sur la transduction et la conversion ont montré le rôle extrêmement important que jouent les phages dans le déterminisme de la structure antigénique des Entérobactéries, et par conséquent, le rôle qu'ils ont pu jouer dans l'apparition d'un bon nombre des sérotypes qui ont été rencontrés dans la nature.

Rien,a priori, ne s'oppose à ce que ces observations faites au laboratoire in vitro puissent se produire dans la nature. Ceci est confirmé par les expériences de transduction réussies in vivo par VELAUDAPILLAI (1960) et par celles rapportées dans ce travail pour la conversion.

Conversion et transduction sont deux phénomènes différents où interviennent le phage et la bactérie. Cette différence ne peut être liée au phage lui-même, puisque nous avons vu qu'un même phage peut convertir un facteur 0 et transduire des spécificités H. Elle ne peut être liée à l'hôte; puisque les deux phénomènes peuvent s'observer simultanément chez une même bactérie.

Une différence frappante entre les deux phénomènes est la fréquence, qui est en général de 100 % pour la conversion, et de 10^{-6} pour la transduction généralisée. Une autre différence est celle de la lysogénisation concomitante : la transduction n'est pas suivie obligatoirement de lysogénisation puisque l'on peut isoler des bactéries transduites non lysogénisées (STOCKER, ZINDER et LEDERBERG (1953) , (ZINDER, 1955), (observations personnelles p. 86). Chez les bactéries converties, il y a toujours lysogénisation concomitante. Si dans certains cas nous avons échoué à mettre en évidence le phage dans le surnageant, même après irradiation, ces cultures sont immunes , donc lysogénisées.

Les deux phénomènes doivent donc être dissociés : dans la transduction le phage apporte à la bactérie réceptrice un fragment limité du chromosome de la bactérie donatrice. Ce fragment peut être intégré au chromosome de la bactérie-hôte. Le phage ne joue pas de rôle propre dans l'expression du caractère. Son seul rôle est celui d'un transporteur d'un caractère ou de caractères étroitement liés d'une bactérie à l'autre. Quand il a rempli cette fonction, la bactérie-hôte peut ne plus en conserver de trace tout en restant transduite.

Dans la conversion le phage joue au contraire un rôle actif : c'est sous son influence que se produisent, suivant un mécanisme encore indéterminé, des modifications des systèmes enzymatiques déterminant la nature et la configuration des polyosides responsables de la spécificité des antigènes 0. La présence du génome phagique est nécessaire pour que ce mécanisme existe. Elle n'est pas suffisante puisque les bactéries R provenant de bactéries S converties sont encore

lysogènes pour le même phage, mais ne peuvent plus élaborer d'antigène 0. Pour que la conversion des antigènes 0 puisse s'exprimer, il faut une coopération entre le virus et la bactérie-hôte en forme S.

La conversion s'exprime rapidement, en une dizaine de minutes, chez les bactéries S, comme le prouve l'immunofluorescence, Pratiquement toute la population des bactéries réceptrices devient fluorescente en présence de l'antisérum spécifique. Au cours de la multiplication, une partie de ces bactéries éclatent en libérant du phage. Quand on dilue cette culture et qu'on l'isole sur milieu solide, en soustrayant donc les bactéries aux contaminations ultérieures par les phages libres, on trouve des colonies converties et des colonies non converties sensibles au phage, en proportions variables. Nous avons fait cette observation avec tous nos phages convertisseurs comme UETAKE, LURIA et BURROUS (1958) l'avaient fait avec le phage epsilon 15. Il se produit donc une ségrégation dans la descendance des bactéries converties, celles chez lesquelles le phage disparaît n'élaborant plus le facteur antigénique correspondant. Par réisolements successifs on peut obtenir des cultures de bactéries converties qui gardent ce caractère pendant plusieurs années.

A plusieurs reprises nous avons isolé des bactéries transduites pour un facteur antigénique H, qui ne sont plus converties, sont redevenues sensibles au phage et peuvent, par un second contact avec celui-ci, être converties à nouveau. Inversement, on peut, dans un premier temps, obtenir des bactéries converties, puis, après un second contact avec le phage et sélection par les anticorps H, des bactéries à la fois converties et transduites. Les bactéries lysogénisées peuvent donc, malgré leur "immunité", recevoir dans ce second temps, par l'intermédiaire du phage, un fragment du chromosome de la bactérie donatrice.

Transduction et conversion sont deux phénomènes phagiques dissociables. Dans la transduction la présence de génome phagique n'est pas nécessaire pour que le caractère transduit soit perpétué. Dans la conversion, il est nécessaire que le matériel génétique du phage soit présent chez l'hôte, qu'il s'agisse d'un prophage ou d'un phage ou d'un phage végétatif. La présence du génome du phage est indispensable à l'expression par la bactérie du facteur antigénique.

Si les phages peuvent amener des modifications dans les caractères antigéniques, ils peuvent aussi par transduction amener des modifications de tel ou tel caractère fermentatif. Nous en avons rapporté des observations dans la revue bibliographique. Utilisant les phages Vi, BARON et coll. (1955) ont aussi pu tranduire les caractères xylose + et arabinose + des S. typhi xylose - et arabinose - Mais c'est surtout par recombinaison génétique que l'on peut provoquer les modifications les plus profondes des caractères fermentatifs. BARON et coll. (1958-1959) ont croisé des E. coli et des

S. typhi murium faisant acquérir à celles-ci des caractères biochimiques de la souche donatrice utilisée dans les classifications, tels que lactose +, indol +, arabinose+, rhamnose +. De tels croisements furent possibles avec d'autres sérotypes tels que S. typhi, S. paratyphi B, C, S. abortus equi et S. strasbourg (BARON et coll I960). SCHNEIDER et coll. (1960) ont montré que de tels croisements peuvent se produire in vivo. Il ne semble pas que, dans ces croisements les caractères antigéniques de la Salmonella receptrice soient modifiés : nous avons eu l'occasion d'étudier un recombinant de E. coli x S. typhi murium dont les agglutinogènes 0 et H étaient strictement identiques à la Salmonella parentale.

Mais l'appariement se produisant à basse fréquence, les chances de détecter ces recombinants dans la nature sont relativement faibles. Cependant les occasions d'appariement possibles sont multiples si l'on considère une période suffisamment longue. Il est très vraisemblable que de tels mécanismes d'échange génétique sont à l'origine de certains caractères dits aberrants chez certaines Salmonella, en particulier les caractères lactose + et indol + qui ont un grand poids dans les systèmes de classification de dichotomique.

Transduction, conversion, recombinaison génétique nous ont permis de comprendre certains des phénomènes par lesquels ont pu se créer, se créent encore et se créeront les types bactériens que nous classons sur la base des caractères biochimiques et antigéniques. Ces découvertes nous ont permis d'aboutir à une conception évolutive de la microbiologie des entérobactéries, et d'aller au-delà de la conception descriptive dans laquelle on est trop souvent hâté de donner un nom de nouvelle "espèce" à des bactéries ne différant que par un caractère de bactéries connues.

Les conversions bactériophagiques ne sont pas limitées aux antigènes 0 des Salmonella. Des modifications de la surface bactérienne se produisent dans d'autres groupes bactériens sous l'action de phages. Nous avons rapporté dans le chapitre I des observations faites chez les Shigella, Pseudomonas, B. megatherium.

Mais la conversion est vraisemblablement un phénomène plus général traduisant les déviations métaboliques induites par un épisome dans une bactérie qui l'héberge et qui peuvent amener des modifications de surface. Deux observations le démontrent :

1 - les E. coli possèdant le facteur F qu'il soit intégré ou non, élaborent au niveau de leur paroi des antigènes particuliers que l'on ne retrouve pas chez les bactéries F-, sont sensibles à l'action d'un phage, le phage f, qui se fixe électivement sur elles alors qu'il ne peut le faire sur les bactéries F-,

2 - quand des bactéries F+ ou Hfr sont contaminées par le facteur de transfert de la résistance multiple (RTF) elles deviennent insensibles au phage spécifique des bactéries mâles qui ne peut se fixer à leur surface.

Un changement de la structure de la paroi se produit donc sous l'action de l'épisome F, un second changement sous celle du "RTF".

Certaines observations faites par les virologues sont à rapprocher des conversions bactériophagiques chez les Salmonella: on sait que les cellules animales de nombreuses espèces peuvent être "transformées" in vivo ou in vitro par plusieurs types de virus oncogènes dont les plus étudiés sont les virus du polyome, l'adénovirus 12, le virus SV 40, le virus du sarcome de Rous. Cette transformation fait acquérir aux cellules le caractère néoplasique, mais s'accompagne en apparence de la disparition du virus responsable, impossible à induire (polyome, adénovirus 12), ou exceptionnellement inductible (SV 40) (GERBER et al. I962, MELNICK et al. I964), ou incorporé à l'état "défectif" (virus du sarcome de Rous) et inductible seulement par un virus apparenté.

Les travaux récents de HUEBNER et al. (I4-30-3I-32-74) viennent de démontrer que, dans toutes ces cellules, une partie au moins du génome viral est incorporé. En effet, les animaux porteurs de tumeurs greffées (ne contenant pas de virus libre) développent à la période terminale, c'est-à-dire au moment où certaines régions de la tumeur commencent à se nécroser, des anticorps d'un type particulier, mis en évidence par fixation du complément en présence d'extraits des cellules malignes homologues. Ces anticorps ne sont pas des anticorps anti-viraux, car ils ne réagissent pas avec les antigènes du virion. Ils sont cependant spécifiques du virus transformant, et correspondent à un ou plusieurs antigènes dont l'information est virale. Par fixation du complément , et par immunofluorescence, on peut en effet montrer que :

1 - l'antigène (ou les antigènes) spécifique est présent dans chacune des cellules transformées (POPE et ROWE. 1964).

2 - Pour un même virus il est identique, quelle que soit l'espèce de la cellule transformée. Ainsi le même antigène est présent dans les cellules de hamster, de rat, de souris, transformées par l'adénovirus 12 (31, 32). Un autre antigène se retrouve à la fois dans les cellules de hamster ou des cellules humaines transformées par le virus SV 40 (RAPP et al. I964).

3 - dans le cas du virus SV 40, on vient de démontrer (SABIN et al., SARMA et al. 1964) que l'antigène spécifique apparaît au cours de la multiplication virale dans les cellules de cercopithèque ; or ces cellules sont toujours détruites par l'infection, et ne peuvent jamais être transformées. L'information pour la synthèse de l'antigène spécifique est donc bien virale.

L'antigène est produit au cours de la multiplication virale mais n'est pas incorporé dans le virion. Il est également synthétisé dans chacune des cellules transformées qui ne produisent pas de virion. On peut donc conclure qu'une partie au moins du génome viral est présent dans les cellules transformées, et que sa présence s'exprime par l'antigène spécifique toujours retrouvé dans leur noyau.

Le terme "transformation" semble donc pouvoir être remplacé dans les cas précédents par celui de "conversion" en raison de l'analogie avec la conversion bactériophagique des Salmonella. La conversion bactériophagique, aisée à étudier chez les Salmonella en raison de la facilité de l'étude sérologique des facteurs antigéniques 0, pourrait donc éventuellement être généralisée. Ce terme sera peut être ultérieurement remplacé par celui de "conversion virale".

oOo

RESUME

L'infection des bactéries par certains bactériophages dits convertisseurs provoque l'élaboration, par la cellule , d'antigènes nouveaux. Ceux-ci peuvent être des toxines qui diffusent dans le milieu (cas de la toxine diphtérique, de la toxine érythrogène des streptocoques) ou des déterminants de la spécificité d'antigènes somatiques. La différence entre ces deux phénomènes est discutée et il est proposé de réserver le nom de conversion bactériophagique à l'élaboration par cellule, quand elle héberge un génome viral, de facteurs antigéniques particuliers. La toxinogénèse chez le bacille diphtérique ou le streptocoque est au contraire liée uniquement à la synthèse de bactériophages murs.

La présence du facteur 27, dont l'existence chez des souches appartenant à certains sérotypes de Salmonella du groupe D avait été reconnue depuis longtemps, est en corrélation avec la présence chez les bactéries du génome d'un phage que nous avons appellé phage 27. Les souches possédant ce facteur sont lysogénes, et le phage qu'elles libèrent a la propriété de lysogéniser les mutants 27- des souches des sérotypes habituellement 27+, les rendant à leur tour agglutinables par le sérum 27.

Le phage 27 peut aussi convertir des souches appartenant à divers sérotypes des groupes ABD qui ne possèdent jamais à l'état sauvage le facteur 27. Cette conversion se fait indépendamment de la présence ou de l'absence du facteur 1, présence qui est, elle aussi, en relation avec celle d'un autre phage (PLT_{22}). Il est ainsi possible de faire des conversions doubles, en faisant acquérir successivement les facteurs 1 et 27.

Les facteurs 27 qu'élaborent des souches de sérotypes différents sont apparentés sérologiquement, mais non identiques. Ces variations dans la structure du facteur 27 sont fonction de la bactérie-hôte, et non de l'origine du phage 27 employé.

Comme le phage PLT22, le phage 27 n'agit que sur les Salmonella appartenant aux groupes ABD, c'est-à-dire, possédant le facteur 12.

Le deuxième phage convertisseur étudié est dénommé 1,37. Isolé de souches lysogènes du groupe G possédant ces facteurs, il convertit les souches de ce groupe qui en sont démunies, leur faisant acquérir simultanément le facteur 1 et le facteur 37. Ces deux facteurs séparés par les sérologistes, correspondent donc très vraisemblablement à un motif antigénique unique, la dénomination 37 ne faisant que traduire une particularité du facteur 1 du groupe G par rapport aux facteurs 1 des autres groupes.

Il fut de même possible d'isoler des souches 1+ du groupe R (0:40) un phage convertisseur actif sur les souches 1- de ce groupe. Ce phage est dénommé 1(40).

Un quatrième phage dénommé 1,42$_2$, isolé de souches du groupe T possédant ces facteurs, les fait acquérir simultanément aux souches de ce groupe qui en sont démunies, en les lysogénisant.

Une étude sérologique des divers facteurs 1 des salmonella a mis en évidence leur complexité. Ces facteurs pourraient être subdivisés en nombreux sous-facteurs.

Un cinquième phage, issu de S. siegburg (6,14,18) fait acquérir les facteurs 6,14 aux souches du groupe K qui ne possèdent que le facteur 18. Il peut ainsi transformer la formule de S. cerro en celle de S. siegburg dont les antigènes H sont identiques. Le second sérotype n'est donc que la variante lysogénisée du premier .

Un sixième phage fut isolé de Salmonella du sous-groupe C$_4$ dont la formule 0 est (6)(7)14. Il convertit les Salmonella du sous groupe C$_1$ de formule 0 6,7 en leur faisant acquérir le facteur 14. Les Salmonella rangées dans le sous-groupe C$_4$ ne seraient en conséquence que des variantes lysogénisées par ce phage de sérotypes du sous-groupe C$_1$.

La mise en évidence du facteur 3 chez les Salmonella du sous-groupe D$_2$ de formule 0(9)46 nous a amené à étudier l'action sur elles des phages epsilon 15 et 34, susceptibles de convertir les Salmonella du sous-groupe E$_1$ (3,10) en leur faisant acquérir successivement les facteurs 15 et 34. Il fut possible de convertir de la même façon des Salmonella du sous-groupe D$_2$. Un sérotype rangé dans ce sous-groupe, S. fresno, possède les facteurs 3,15,34 en plus des facteurs (9)46,12$_2$. Nous avons montré qu'il se comporte comme une souche sauvage doublement convertie, et que le phage epsilon 34 fait apparaître simultanément les facteurs 34 et 12$_2$. On doit en conséquence envisager de classer les sérotypes du sous-groupe actuellement dénommé D$_2$ dans le groupe E.

L'immunofluorescence a montré que dans tous les cas les facteurs néoformés apparaissent entre la 8e et la 12e minute à la surface des bactéries après leur mise en contact avec le phage. Après ce laps de temps, toutes les bactéries deviennent fluorescentes. Dans l'isolement de la culture secondaire on trouve habituellement des colonies de bactéries converties et des colonies de bactéries qui ont perdu le génome phagique, qui ne possèdent pas le nouveau facteur antigénique, et qui sont redevenues sensibles aux phages. Dans certains cas enfin, la conversion peut être abortives.

Seules les souches en forme S peuvent être converties. Le phage est sans action sur les bactéries ne possédant pas l'antigène 0. Cependant, les variantes R provenant de bactéries S converties restent lysogènes et le phage qu'elles libèrent a gardé son caractère convertisseur.

Les phages 27, et les quatre phages convertisseurs pour les facteurs 1 des groupes ABD d'une part, G, R et T d'autre part, diffèrent par leur spécificité d'action et par leurs caractères antigéniques. Cependant tous ces phages possèdent une morphologie identique : tête polyédrique de 600 Å , courte queue comportant un axe central de 70 Å, auquel est attaché une plaque terminale de 200 Å de long sur 35 Å d'épaisseur, supportant 6 prolongements courts. Cette morphologie particulière a été retrouvée chez les phages convertisseurs du groupe E.

Tous ces phages convertisseurs sont transducteurs. Cette propriété est facilement mise en évidence en utilisant les caractères sérologiques des antigènes H. Ils peuvent donc amener des changements de la formule antigénique portant sur les antigènes 0 et les antigènes H. Dans plusieurs cas les souches converties et transduites avaient des formules de nouveaux sérotypes. Transduction et conversion peuvent être obtenues indépendamment : il est possible de transduire des facteurs H à une souche convertie et inversement de convertir une souche transduite qui, par ségrégation, a perdu son génome phagique. Ces deux phénomènes phagiques sont donc dissociables.

La conversion peut, comme il était vraisemblable se produire in vivo et il fût aisé de les démontrer en utilisant des bactéries réceptrices résistances à la streptomycine.

Aucune modification de virulence ne fût obtenue en convertissant des souches non virulentes pour la souris par un phage issu d'une souche virulente ; de même des souches virulentes converties par un phage provenant de souches non virulentes sont restées virulentes. Les modifications des antigènes 0 obtenues par conversion n'entraînent donc pas de modification du pouvoir pathogène expérimental, quelle que soit l'origine du phage convertisseur utilisé.

La spécificité des antigènes apparaissant après lysogénisation a été confirmée par titrage sur souris des opsonines correspondantes, en étudiant l'épuration sanguine, sous l'influence des anticorps, de bactéries marqués à l'iode radioactif.

Les résultats montrent l'importance de la conversion bactériophagique dans le déterminisme de la structure antigénique des Salmonella : le complexe virus-hôte a des antigènes somatiques différant par certains facteurs facteurs de la cellule originelle. Comme tous les phages convertisseurs sont transducteurs, ils peuvent aussi modifier la structure de l'antigène H. Ceci démontre le rôle qu'ont pu jouer et que continuent à jouer les bactériophages dans l'apparition des nouveaux sérotypes de Salmonella que l'on rencontre dans la nature.

oOo

BIBLIOGRAPHIE

1 - ADAMS M.H. -

Bactériophages, Interscience Publ. NEW YORK, 1959.

2 - ALMON L. and STOWALL M.D.-

The lack of one of the somatic antigens of typhoïd cultures - J. Bact., 1939, 38, pp. 419-430.

3 - ANDERSON T.F.-

The Proceedings of the European Regional Conference ou Electron Microscopy - DELFT - 1960 (II), pp.1008-1011.

4 - ANDREWES F.W. -

Studies in group agglutination - I Salmonella group and its antigenic structure. J. Path. Bact. , 1922, 25, pp. 505-521.

5 - BARKSDALE L.-

Lysogenic conversion in Bacteria - Symp. on the Biology of cells modified by viruses or antigens - Bacteriological Reviews, 1959, 23, pp. 202-212.

6 - BARON L.S., CAREY W.F., SPILMAN W.M.-

Hybridization of Salmonella species by mating with Escherichia coli - VIIe Congrès International de Microbiologie, 1958, Abstracts, p. 50.

7 - BARON L.S. , FORMAL S.B. and SPILMAN W.M.-

Use of Vi phage lysates in genetic transfer.- Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 1953, 83, pp. 292-295.

8 - BARON L.S., FORMAL S.B.et SPILMAN W.M. -

Vi phage-host interaction in Salmonella typhosa - J. of Bact., 1955, 69, pp. 177-183.

9 - BARON L.S., FORMAL S.B. et WASHINGTON O.-

Somatic antigen addition in Salmonella by bacteriophage- Virology, 1957, 3 , pp. 417-425.

10 - BARON L.S. , SPILMAN W.M. et CAREY W.F.-

Hybridization of Salmonella species by mating with Escherichia coli - Science, 1959, 130, pp. 566-567.

11 - BARON L.S., SPILMAN W.M., CAREY W.F. -

Diploïd heterozygous hybrid from matings between Escherichia coli and Salmonella typhosa - J. Exp. Med., 1960, 112, pp. 361-372.

12 - BINGEL K.F.-

Neue Untersuchungen zur Scharlachätiologie - Deutsch. Med. Woch., 1949, 74, pp. 703-710.

13 - BIOZZI G., STIFFEL C., LE MINOR L., MOUTON D. et BOUTHILLIER Y-

Etude quantitative de l'effet opsonisant des immumsérums sur la phagocytose des Salmonella par les cellules du système réticulo-endothélial in vivo - Ann. Inst. Pasteur, 1963, 105, pp. 635-666.

14 - BLACK P.H., ROWE W.P., TURNER H.C. et HUEBNER R.J.-

A specific completement fixing antigen present in SV-40 tumor and transformed cells - Proc. Nat. Ac. Sci., 1963, 50, pp. 1148-1156.

15 - BRADLEY D.E. et KAY D.-

The fine structure of bacteriophages J. of Gen. Microbiol., 23, pp. 553-563.

16 - BRUNER D. et EDWARDS P.R.-

Charges induced in the 0 antigens of Salmonella - J. Bact., 1948, 55, p. 449.

17 - EDWARDS P.R., FIFE M.A., LE MINOR L. -

The occurence of three readily reversible flagellar phases in an organism of the Arizona group.- J. Bact., 1960, 80, pp. 259-264.

I8 - EDWARDS P.R., Mc WHORTER A.C., FIFE M.A.-

Studies on group G of the genus Salmonella - J. Bact., 1964, 67, pp. 346-349.

I9 - EDWARDS P.R., MORAN A.B., WATT J. et de CAPITO T.-

Salmonella lomita et Salmonella riogrande. - U.S. Public Health Rep., 1950, 65, pp. 210-212.

20 - EDWARDS P.R., SAKAZAKI R. et KATO I.-

Natural occurence of four reversible flagellar phases in cultures of Salmonella mikawashima - J. of Bacteriology, 1962, 84, pp. 99-103.

21 - ESCOBAR M.R. et EDWARDS P.R.-

Lysogenic conversion in Salmonella 0 group C - Bact. Proceedings, 1964, 84 th meeting A.I.S.M., p. 146.

22 - FREEMAN V.J.-

Studies on the virulence of bacteriophage infected strains of Cornybacterium diphtheriae.- J. Bact., 1951, 61, pp. 675-688.

23 - FREEMAN V.J. et MORSE I.U.-

Further observations on the change to virulence of bacteriophage-infected avirulent strains of Cornybacterium diphteriae.- J. Bact., 1952, 63, pp. 407(414.

24 - FROBISHER M. et BROWN J.H.-

Transmissible toxicogenicity of streptococci Bull. John Hopkins Hosp., 1927, 41, pp. 167-173.

25 - GERBER P. et KIRSCHSTEIN R.L.-

SV-40 induced Ependymonas in newborn Hamsters - I Virus tumor relationships - Virology, 1962, 18, pp. 582-588.

26 - HARADA K.-

Studies on the directed variation of Salmonella 0-15and 0-34 by bacteriophage . I Antigen transformation by two kinds of bacteriophage. II studies on antigen formation by antiserum and antigen production goverhed by prophage - Virus, 1956, 6, pp. 285-299 et 300-307 (en Japonais).

27 - HARADA K.-

Studies on directed variation of Salmonella 0:34 by bacteriophage. I - Antigenic transformation by bacterial autolysat and antisérum. II Antigenic transforming agents in bacteria of groupe E_3 -
Japan J. microbiol., 1959, 3, pp. 53-60 et 61-69.

28 - HOFMANN S., KAUFFMANN F., ANZ W.-

Eine neue Salmonella-species : Salmonella bornum = 6, (7), (14):z_{38}: - und eine neue Salmonella-O-Untergruppe (C4). - Zbl. Bakt., 1, Abt. Orig., 1960, 179, pp. 39-42.

29 - HOLLOWAY B.W. et COOPER G.H.-

Lysogenic conversion in Pseudomonas aeruginosa - J. of Bact., 1962, 84, pp. 1321-1324.

30 - HUEBNER R.J., ARMSTRONG D., OKUYAN M., SARMA P.S. TURNER H.C.-

Specific complement-fixing viral antigens in Hamster and Guinea pig tumor induced by the Schmidt-ruppin strain of avian Sarcoma.
Proc. Nat. Ac. Sci. , 1964, 51, pp. 742-750.

31 - HUEBNER R.J., PEREIRA H.G., ALLISON A.C., HOLLINSHEAD A.C. et TURNER H.C.

Production of type specific C antigen in virus-free Hamster tumor cells induced by adenovirus type 12 - Proc. Nat. Ac. Sci., 1964, 51, pp. 432-439.

32 - HUEBNER R.J., ROWE W.P., TURNER H.C. et LANE W.T.-

Specific adenovirus complement fixing antigens in virus-free hamster and rat tumors.- Proc. Nat. Ac. Sci. , 1963, 50, pp. 379-389.

33 - IONESCO H.-

Sur une propriété de Bacillus megatherium liée à la présence d'un prophage - Compte rend. Acad. Sci., 1953, 237, pp. 1794-1795.

34 - ISEKI S. and HAMANO S.-

The transduction and lysogenic conversion in Salmonella group E by means of Epsilon 34 phage .- Gunma J. Med. Sci., I958, 7 , pp. I-6.

35 - ISEKI S. and HAMANO S.-

Conversion of type antigen IV in Shigella flexneri by bacteriophage. Proc. Japan Acad., I959, 35, pp.407-412.

36 - ISEKI S. et SAKAI T.-

Artificial transformation of 0 antigens in Salmonella E group.- I Transformation by antisérum and bacterial autolysate - II Antigen transforming factor in bacilli of subgroup E_2 - Proc. Japan Acad. I953, 23, pp. 121-126 et 127-131.

37 - ISEKI S. et SAKAI T.-

Transduction of biochemical properties in Salmonella E group - (and) - Artificial transformation of 0 antigen in Salmonella E group, IV, Transformation of 0 antigen of sub-group E3 by bacteriophage, - Proc. Japan Acad., 1954, 30, pp. 143-147 et 1001-1005.

38 - ISEKI S. et KASHIWAGI K.-

Induction of somatic 1 by bacteriophage in Salmonella B-group. Proc. Japan Acad., 1955, 31, pp.558-563.

39 - ISEKI S. et KASHIWAGI K -

Lysogenic conversion and transduction of genetic characters by temperate phage Iota in Salmonella - I Lysogenic conversion with regard to somatic antigen 1 in Salmonella groups A, B and D.- Proc. Japan Acad., I957, 33, pp. 481-485.

40 - ISEKI S. et MATSUMOTO T.-

Conversion of somatic antigen 20 and transduction of genetic characters by bacteriophage in Salmonella groupe C.- Proc. Japan Acad.1959, 10, pp. 626-631.

41 - JACOB F.-

Les bactéries lysogènes et la notion de provirus - Monographies de l'Institut Pasteur, - MASSON Ed., Paris, 1954.

42 - KAUFFMANN F.-

Die Bakteriologie der Salmonella - Gruppe - Munksgaard Edit., Copenhague, 1941, p. 148.

43 - KAUFFMANN F.-

Ueber weitere neue Salmonella-typen - Acta Pathol. Microb. LIV-suppl., 1944, pp. 33-48.

44 - KAUFFMANN F. and DEOM J.-

A new Salmonella type (Salmonella bulawayo) = (1),49:z:1,5 - Acta Path. & Microbiol. Scand., 1957, XL, pp. 347-348.

45 - KAUFFMANN F.-

Supplement to the Kauffmann-White Scheme (II) - Acta Pathologica et Microbiol. Scand., I959, 45, pp. 411-416.

46 - KAUFFMANN F.-

Die Bakteriologie der Salmonella Species - E. Munksgaard Edit. Copenhague, 1961.

47 - KAUFFMANN F. et PETERSEN A.-

Zur Serologie der Salmonella O-Gruppen 28, 40, 45 und 47 - Acta Path. Microbiol. Scand., I962, 56, pp. 343-351.

48 - KAUFFMANN F. und PETERSEN A.-

Zur Serologie der Salmonella 0-Gruppen - Acta Pathologica et Microbiologica Scandin. , 1963, 58, pp. 99-108.

49 - KAUFFMANN F. et ROHDE R.-

Neue Befunde beim 0-Formen-Wechsel der Salmonella-species - Acta Pathol. et Microb. Scand., 1961, 52, pp. 211-216.

50 - KAY D.-

Viruses nucleic acid and cancer - VII Ann. Symp. on Fund. Canc. Res., I963, pp. 7-26.

51 - KJEMS E.-

Studies of streptococcal bacteriophages - III - Hyluronidase produced by the streptococcal phage-host cell system Acta path. et microbiol. Scand., 1958, 44, pp. 429-439.

52 - KRISHNAPILLAI V., BARON L.S. -

Alteration in the mouse virulence of "Salmonella typhi murium" by genetic recombination - J. Bact., 1964, 87, pp. 598-605.

53 - LEDERBERG J.-

Recombination mechanisms in Bacteria - J. Cell. and Comp. Physiol., 1955, 45, pp. 75-107.

54 - LEDERBERG J., LEDERBERG E.M., ZINDER N.D. et LIVELY E.R.-

Recombination analysis of bacterial heredity - Cold Sping Harbor Symp. Quant. Biol., 1951, 16, pp. 413-443.

55 - LE MINOR L.-

Conversion par lysogénisation de quelques sérotypes de Salmonella des groupes A, B et D normalement dépourvues du facteur 0 :27 en cultures 27 positives - Ann. Inst. Pasteur, 1962, 103, pp. 684-706.

56 - LE MINOR L.-

Conversions antigéniques chez les Salmonella - IV Acquisition du facteur 0 1 par des Salmonella des groupes R et T sous l'effet de la lysogénisation - Ann. Inst. Pasteur, 1963, 105, pp. 879-896.

57 - LE MINOR L., ACKERMAN H.W. et NICOLLE P.-

Acquisition simultanée des facteurs 0 1 et 0 37 par les Salmonella du groupe G sous l'effet de la lysogénisation Ann. Inst. Pasteur, 1963, 104, pp. 469-476.

58 - LE MINOR L. et EDWARDS P.R.-

Présence de trois phases de l'antigène flagellaire chez des bactéries du groupe Salmonella - Ann. Inst. Pasteur , 1960, 99, pp. 469-474.

59 - LE MINOR L. , LE MINOR S. et NICOLLE P.-

Conversion de cultures de Salmonella schwarzengrund et Salmonella bredeney dépourvues de l'antigène 27, en cultures 27 positives par la lysogénisation - Ann. Inst. Pasteur, 1961, 101, pp. 571-589.

60 - MATSUI S. -

Antigenic changes in Shigella flexneri group by bacteriophage - Jap. J. Microb., I958, 2 , (2), pp. 153-158.

61 - MATSUMOTO T., SERIZAWA N. et ISEKI S.-

Supplementary findings about the conversion of somatic antigen of Salmonella by phage - Gunma J. Med. Sci., I959, VIII, pp. 163-170.

62 - MELNICK J.S., KHERA K.S. et RAPP F.-

Papovavirus SV-40 : Failure to isolate infectious virus from transformed hamster cells synthesizing SV-40 induced antigens - Virology, 1964, 23, pp. 430-432.

63 - NAKAGAWA T. -

Lysogenic conversion of 0 antigen 34 in group E. Salmonella. Japan J. Bact., 1957, 12, pp. 47-52 et 107-110 (en japonais).

64 - OBARA T -

Artificial transformation of 0 antigens in Salmonella - Sapporo Ikadaïgaku-Kiyo, 1950, 1 (2) pp. 68-78 (en japonais)

65 - POPE J.H. et ROWE W.P. -

Détection of specific antigen in SV-40 transformed cells by immunofluorescence - J. exp. Med., 1964, 120, pp. 121-127.

66 - POPE J.H. et ROWE W.P. -

Immunofluorescent studies of adenovirus 12 tumors and of cells transformed or infected by adenovirus - J. exp. med., 120, pp. 577-587, I964.

67 - RAPP F., KITAHARA T., BUTEL J.S. et MELNICK J.L.-

Synthesis of SV-40 tumor antigen during replication of simian papovavirus (SV-40) - Proc. Nat. Ac. Sci., 1964, 52, pp. 1138-1142.

68 - ROBBINS P.W. and UCHIDA T.-

Studies on the chemical basis of the phage conversion of 0-antigens in the E-groupe Salmonellae - Biochemistry 1962, 1 , pp. 323-335.

69 - ROBBINS P.W. et UCHIDA T.-

Déterminants of specificity in Salmonella : changes in antigenic structure mediated by bacteriophage.- Féderation Proceedings, 1962, 21, pp. 702-710.

70 - ROSENDAL K., BULOV P., JESSEN O.-

Lysogenic conversion in Staphylococcus aureus, to a change in the production of extracellular Tween-splitting enzyme - Nature, 1964, 204, pp. 1222-1223.

71 - SABIN A.B. et KOCH M.A. -

Evidence of continous transmission of non-infectious SV-40 viral genome in most or all SV-40 hamster tumor cells.- Proc. Nat. Ac. Sci. , 1963, 49, pp. 304-311.

72 - SABIN A.B. et KOCH M.A.-

Behaviour of non infectious SV-40 viral genome in hamster tumor cells : induction of synthesis of infectious virus - Proc. Nat. Ac. Sci., 1963, 50, pp. 407-417.

73 - SABIN A.B. et KOCH M.A.-

Source of genetic information for specific complement fixing antigen in SV-40 virus-induced-tumors. Proc. Nat. Ac. Sci. , I964, 52, pp. 1131-1138.

74 - SARMA P.S., TURNER H.C. et HUEBNER R.J.-

An avian leucosis group-specific complement fixation reaction. Application for the detection and assay of non-cytopathogenic leucosis viruses. - Virology, 1964, 23, pp. 313-321.

75 - SCHNEIDER H., FORMAL S.B. et BARON L.S.-

Expérimental genetic recombinaison in vivo between Escherichia coli et Salmonella typhimurium - Bact. Proc., 1960, 60, pp. 73-74.

76 - STAUB A.M.-

Constitution chimique de quelques sites présents à la surface des Enterobacteriaceae responsables de leur spécificité vis à vis des anticorps et des bactériophages Path. Microb., I961, 24, pp. 890-909.

77 - STAUB A.M. et FOREST N.-

Etude immunochimique sur les Salmonella - IX - Premiers résultats des Salmonella des groupes B, A et D, converties par le phage 27 - Ann. Inst. Pasteur I963, 104, pp. 371-383.

78 - STOCKER B.A.D. -

Measurements of rate of mutation of flagellar antigenic phase in Salmonella typhimurium.- J. of Hygiene , 1949, 47, pp. 398-413.

79 - STOCKER B.A.D.-

Lysogenic conversion by the A phages of Salmonella typhimurium - J. Gen. Microb., I958a, 18 (1) pp.ix

80 - STOCKER B.A.D., STAUB A.M., TINELLI R., KOPACKA B.-

Etude immunochimique sur les Salmonella - VI Etude de l'antigène 1 présent sur deux Salmonella des groupes B et E4 - Ann. Inst. Pasteur, 1960, 98, pp. 505-523.

81 - STOCKER B.A.D., ZINDER N.D., LEDERBERG J.-

Tranduction of flagellar characters in Salmonella - J. Gen. Microb., 1953, 9 , pp.410-433.

82 - UCHIDA T., ROBBINS P.W. et LURIA S.E.-

Analysis of the serologic determinant groups of the Salmonella E-group 0-antigens.- Biochemistry, I963, 2 , pp. 663-668.

83 - UETAKE H.-

Lysogenic conversion in bacterial antigens - Proceed, of the Int. Genetics - Symposium 1956 - suppl. du volume Cytologia Intern. J. of Cytology (30-7-57) - pp. 645-650.

84 - UETAKE -

The genetic control of inducibility in lysogenic-bacteria - Virology, 1959, 7 , pp. 253-262.

85 - UETAKE H. et HAGIWARA S. -

Somatic antigen 15 as precursor of antigen 34 in Salmonella - Nature, 1960, 186, pp. 261-262.

86 - UETAKE H., LURIA S.E. et BURROUS J.W. -

Conversion of somatic antigens in Salmonella by phage infection leading to lysis or lysogeny. Virology, 1958, 5 , pp. 68-91.

87 - UETAKE H., NAKAGAWA T.and AKIBA T.-

The relationship of bacteriophage to antigenic changes in group E Salmonellae- J. Bact., I955, 69, pp.571-579.

88 - UETAKE H. et OBARA T.-

Jap. J. Bact. , 1950, 5 , pp.164 (en japonais).

89 - VAN OYE E., VASSILIADIS P., JANSSEN P. et VAN LOOY G.-

Une nouvelle Salmonella isolée au Congo Belge : S. bukawu (1, 40:L, z_{28}:1, 5 - Ann. Inst. Pasteur, 1959, pp. 370-372.

90 - VELAUDAPILLAI T. -

Transduction in vivo - Zeitschr. f. Hygiène, 1960, 146 pp. 470-480.

91 - VIEU J.F., CROISSANT O. et DAUGUET C.-

Sur la structure des bactériophages responsables des phénomènes de conversion chez les Salmonella. Ann. Inst. Pasteur, 1965 (sous presse)

92 - YAMADA C.and SAKAZAKI R.-

The spontaneous transformation of Salmonella newington to Salmonella anatum.- Med. and Biol. , I95I, 2 (5) pp. 209-211.

93 - ZABRISKIE J.B.,

The role of temperate bacteriophage in the production of erythrogenic toxin by group A streptococci. J. of exp. Med., 1964, 119, pp.761-780.

94 - ZINDER N.D.-

Bacterial tranduction - J. Cell. Comp. Physiol., I955, 45 , suppl. 2, pp. 23-49.

95 - ZINDER N.D.-

Lysogenic conversion in Salmonella typhi murium, Science, 1957, 126, p. 1237.

96 - ZINDER N.D. et LEDERBERG J.-

Genetic exchange in Salmonella - J. Bact. 1952, 64, p. 679-699.

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

LE FACTEUR DE TRANSFERT DE LA RESISTANCE MULTIPLE AUX ANTIBIOTIQUES

Vu et approuvé :

Paris, le 23 mars 1965

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

Marc ZAMANSKY

Vu

et Permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie
de Paris,

Jean ROCHE

AGEMP